



HAL
open science

Les contaminants chimiques seuls ou en mélange

Nathalie Ruaux

► **To cite this version:**

Nathalie Ruaux. Les contaminants chimiques seuls ou en mélange. Les contaminants chimiques seuls ou en mélange, 2021. anses-03207811

HAL Id: anses-03207811

<https://anses.hal.science/anses-03207811>

Submitted on 26 Apr 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

LES
CAHIERS
DE LA
RECHERCHE

Santé, Environnement, Travail

Les contaminants chimiques seuls ou en mélange
Comprendre où en est la recherche

JANVIER 2021

Édition scientifique



anses

Editorial

Depuis la fin du XX^e siècle, il est devenu évident que les facteurs génétiques ne suffisent pas à expliquer l'augmentation de la prévalence d'un certain nombre de pathologies chroniques (asthmes et allergies, cancers, troubles métaboliques...). Ainsi, le rôle des expositions environnementales est, de plus en plus, mis en avant dans la genèse des maladies non transmissibles : pollution atmosphérique et maladies respiratoires, perturbateurs endocriniens et maladies métaboliques, produits phytosanitaires et cancer ou maladies neurodégénératives, etc.

Les substances chimiques d'origine synthétique auxquelles nous sommes exposés sont les plus incriminées ; elles peuvent, par exemple, être cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction. Selon l'Eurobaromètre 2019, huit citoyens sur dix s'inquiètent « des effets des produits chimiques présents dans les produits de consommation courante »¹.

Pour répondre à ces préoccupations, le règlement REACH² vise une meilleure connaissance des effets des substances chimiques sur la santé humaine et sur l'environnement. Il prévoit notamment l'évaluation des données techniques et scientifiques fournies par les producteurs ou importateurs d'une substance avant sa mise sur le marché européen. Ce qui nécessite de considérer, avec beaucoup d'attention, une à une, toutes les substances pour bien définir leur niveau de toxicité ou caractériser leurs propriétés dangereuses (relation dose-réponse, valeur toxicologique de référence, effet de seuil...).

Avec plus de 150.000 substances dans notre environnement quotidien, les expositions ne se limitent pas à un polluant unique – chacun étant exposé, dans son cadre de vie, à différentes substances.

Avec plus de 150.000 composés chimiques dans notre environnement quotidien, les expositions ne se limitent pas à un polluant unique – chacun étant exposé, dans son cadre de vie, à différentes substances. Quel en est l'impact sur notre santé ?... Outre les évaluations concentrées sur un produit (une famille de substances) ou sectorisées par milieu, l'Anses s'efforce de comprendre les liens entre notre environnement et notre santé. En effet, les substances présentes dans les organismes, proviennent non seulement de sources extérieures (air, eau, alimentation...) mais résultent aussi de processus internes (inflammation, stress oxydant, peroxydation lipidique, dégradation de la flore intestinale...). De ce point de vue, le concept d'exposome³ propose de considérer l'ensemble des expositions durant la vie entière d'un individu, ce qui peut sembler ambitieux, mais fait sens pour prévenir la survenue de maladies non transmissibles.

¹ https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/fr/ip_20_331

² Entré en vigueur le 1^{er} juin 2007.

³ Introduit dans la Loi de modernisation du système de santé (dite « Loi Touraine »), 26 janvier 2016.

À partir de ce concept, les travaux de recherche et d'expertise s'orientent vers la recherche de biomarqueurs (« biomonitoring ») d'exposition ou d'effets, le développement de nouvelles méthodes et d'outils innovants (ex. modèles de prédiction mathématique) pour évaluer l'exposition cumulée et prévenir la survenue de maladies chroniques. Cette approche globale est l'une des priorités du 4^{ème} Plan national santé environnement (2020-2024). Facilitée par les progrès des méthodes « omics » (métabolomic, protéomic, transcriptomic, épigénomic), elle met en lumière de nouvelles stratégies en faveur d'une recherche structurée et intégrée.

Roger GENET

Directeur général, Anses

Cahiers de la Recherche LES CONTAMINANTS CHIMIQUES SEULS OU EN MÉLANGE		# 16
16	38	2,3
Projets valorisés	Équipes de recherche impliquées	Millions d'euros alloués

Sommaire

Editorial.....	1
Introduction générale.....	5
Approches actuelles pour l'évaluation des risques à des mélanges de substances chimiques.....	13
L'impact sur l'environnement des médicaments en mélange.....	18
La dissémination de l'antibiorésistance en milieu piscicole.....	21
Traitements des sols contaminés par des composés aromatiques polycycliques.....	23
L'élimination de la chlordécone dans les effluents d'élevage.....	26
Co-exposition aux insecticides et au virus Zika au cours de la grossesse.....	28
L'exposition aux LED et aux polluants chimiques.....	30
Exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol.....	33
L'exposition professionnelle aux ammoniums quaternaires.....	35
Les insecticides biologiques Bt.....	37
L'impact d'une exposition alimentaire à un mélange de pesticides.....	40
Cocktail de pesticides et stéatose hépatique.....	42
Les microARN circulants comme bioindicateurs d'exposition aux HAP seuls et en mélange.....	44
L'impact des pesticides de la famille des carbamates sur la maladie de Parkinson.....	47
La surveillance de l'eau : vers une méthode de détection innovante.....	49
Comment mesurer la toxicité des micropolluants ?.....	51
Les interactions toxicologiques entre les poumons et le foie.....	53
Abréviations utilisées.....	56
Table des illustrations.....	58
Mentions légales.....	59
Archives ouvertes.....	60

Avertissement à l'attention des lecteurs

Les présentations des projets de recherche reflètent les points de vue des équipes scientifiques partenaires et n'engagent ni les Ministères de tutelles ou l'Anses et les partenaires associés. Pour toute question, les contacts sont indiqués en tête de chaque article.

Retrouvez les *Cahiers de la Recherche* sur le site de l'Agence !

<https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche>

ajoutez à vos favoris en les ajoutant à la barre de favoris. [Importer mes favoris maintenant...](#)

L'Anses | Expertise et évaluation | Recherche et référence | Veille et vigilances | Europe et internationale | Recrutement | Mon compte | FR EN

Actualités | Nos thématiques | Index A - Z | **Avis, rapports, publications** | Evénements | Appels, consultations | Presse | Presse


Agence nationale de l'alimentation et du travail

Rechercher sur le site OK

Accueil > Les cahiers de la recherche

Les cahiers de la recherche

En matière de recherches financées dans le cadre du programme de Travail (PNR EST) dans ce domaine, elle a contribué à la thématique "Radiofréquences et santé" et les premiers projets est lancé.

Cette édition des *Cahiers de la recherche* est la première sur le thème "Radiofréquences et santé". Elle laisse apparaître les retombées du fort investissement des chercheurs dans ce domaine avec l'émergence de nouvelles idées et les premiers résultats. Elle souligne également un autre point positif pour une agence comme l'Anses : l'émergence d'une communauté de recherche avec des acteurs confirmés mais aussi, chaque année, de nouveaux entrants qui apportent de techniques et des idées nouvelles.

► Consulter notre dernier numéro : [Cahier de la recherche n°9 : "Radiofréquences et santé" \(pdf\)](#)

Anciens numéros :
[Cahier de la recherche n°8 : "Regards sur 10 ans de recherche. Le PNR-EST, de 2006 à 2015" \(pdf\)](#)

[Avis, rapports sur saisine](#)
[Avis REACH et CLP](#)
[Registre des décisions d'AMM](#)
[Registre des produits biocides](#)
[Registre des avis macroorganismes](#)
[Informations pétitionnaires PPP](#)
[Informations pétitionnaires MFSC](#)
[Fiches de dangers biologiques](#)
[Fiches d'aide à la rédaction des GBPH](#)
[Fiches de maladies animales](#)
[Fiches sur les maladies végétales](#)
[Bibliothèque des documents réglementaires vétérinaires](#)
[Plaquettes de l'Anses](#)
[Plaquettes de conseils pratiques](#)
[Magazines et périodiques](#)
[Avis du comité de déontologie](#)
[Lettre d'information](#)

<https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche>

Introduction générale

Les êtres humains et les organismes vivants sont exposés en permanence à de multiples substances chimiques, présentes dans l'environnement : polluants, contaminants, composés organiques volatils, pesticides, perturbateurs endocriniens, médicaments, etc.

On estime qu'il existe plus de 150.000 substances ou composés chimiques dans notre environnement quotidien... Si le rôle des expositions environnementales est de plus en plus mis en avant dans l'apparition et le développement de certaines pathologies chroniques, évaluer la fraction imputable au facteur environnemental et/ou professionnel est difficile et controversé⁴.



Illustration 1 : L'impact des contaminants chimiques sur le milieu aquatique
(Source : iStockphoto)

Les contaminants chimiques seuls et en mélange

Chaque jour, nous sommes exposés simultanément à de multiples substances chimiques différentes. Existe-t-il des interactions entre ces différentes substances ? Quels sont les effets lorsque l'on est exposé à plusieurs de ces substances en même temps ? Quels sont les effets potentiels de ces mélanges sur l'Homme et son environnement ?... Théoriquement, il est possible que certains effets imprévus deviennent observables. Ainsi, certaines de ces substances, comme les perturbateurs endocriniens, sont suspectées d'interagir ensemble ; c'est ce que l'on appelle l'effet « cocktail ».

Combinées, même à faible dose, certaines substances semblent capables d'agir en synergie sur nos cellules et provoquer des effets qu'elles ne peuvent produire seules. D'autres voient leurs effets nocifs se renforcer, s'amplifier...

- *Dans les milieux aquatiques*

Laurence Salomé (2017) propose d'étudier l'impact sur les écosystèmes et les organismes aquatiques (ex. crustacés, mollusques) des médicaments en mélange : notamment celui de la carbamazépine (anti-épileptique) en mélange avec d'autres molécules pharmaceutiques. Elle explore, pour ce faire, les capacités d'une biopuce originale pour permettre des mesures ultra sensibles et dynamiques⁵. De son

⁴ Ex. distillène et cancers génitaux, pesticides et maladie de Parkinson, Bisphénol A (BPA) et troubles métaboliques.

⁵ Cf. Laurence Salomé, *L'impact sur l'environnement des médicaments en mélange*, pp. 18-20

côté, Christophe Merlin (2018) s'interroge sur l'effet des résidus pharmaceutiques, combinés ou non à d'autres polluants, sur la dissémination de l'antibiorésistance dans les milieux aquatiques. Il se focalise sur les pratiques d'élevage piscicole, reliant dans sa réflexion santé animale, humaine et environnement⁶ conformément au principe « One health »⁷.

- ***Dans les sols***

La toxicité des mélanges se pose aussi à propos de la contamination des sols par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Coralie Biache propose d'évaluer sur l'impact de la réhabilitation des sites (traitements par oxydations chimiques) sur la chimie, le transfert et l'écotoxicité de la pollution et propose, pour répondre à cette question, de combiner approches chimique et biologique⁸.

- ***Dans les départements et régions d'Outre-Mer***

Philippe Quénel (2017) s'interroge sur l'impact de la co-exposition de la population guadeloupéenne à des arboviroses (ex. infection par le virus Zika) et à des familles de pesticides (ex. carbamates, organophosphorés, pyréthrinoides) dans la survenue d'anomalies du développement du système nerveux du fœtus à la naissance et du nourrisson à l'âge de dix-huit mois⁹. Tandis que Cyril Feidt propose d'étudier, pour la première fois, le traitement de la chlordécone (CLD) dans les effluents d'élevage en se focalisant sur la Guadeloupe¹⁰.

L'exposome

Introduit par le Dr Christopher Wild (épidémiologiste du cancer) en 2005, le concept d'exposome désigne l'ensemble des expositions qui peuvent porter atteintes à la santé humaine tout au long d'une vie. À la différence du génome, ce nouveau concept reste encore méconnu. Repris, dix ans plus tard, dans le Plan national Santé Environnement¹¹, il a été depuis clarifié et enrichi jusqu'à devenir le « premier des neuf sujets » à définir la loi de santé publique française¹².

Selon Robert Barouki, professeur à l'Université Paris Descartes et toxicologue à l'Inserm, « ce concept donne une vision réellement multidimensionnelle des relations entre environnement et santé. L'introduction de ce concept unificateur constitue une vraie rupture qui trace une feuille de route tout en s'appuyant sur des avancées techniques ». Il complète la notion de génome, car il apparaît désormais évident que les facteurs génétiques ne suffisent pas à expliquer l'augmentation de la prévalence de certaines maladies chroniques (ex. affections respiratoires, cancers, troubles métaboliques).

Ces avancées ont permis notamment de caractériser l'effet des composés organiques volatils (COV), pesticides, polluants organiques persistants (POP), médicaments qui, utilisés de manière fréquente et prolongée, se révèlent être des dérégulateurs de l'organisme : parfois, même, de redoutables perturbateurs endocriniens (PE). Si le rapport de causalité est clairement établi pour les effets toxiques aigus, il n'en va pas de même pour les effets chroniques, beaucoup plus difficiles à cerner avec précision et à prévenir. Ainsi, la notion d'exposome « implique de prendre en considération les diverses sources de pollution et de stress, y compris stress psychologique et socio-économique,

⁶ Cf. Christophe Merlin, *La dissémination de l'antibiorésistance en milieu piscicole*, pp. 21-23.

⁷ "Une seule santé" : <https://www.anses.fr/fr/content/one-health>

⁸ Cf. Coralie Biache, *Traitement des sols contaminés par des composés aromatiques polycycliques*, pp. 23-25.

⁹ Cf. Philippe Quénel, *Co-exposition aux insecticides et au virus Zika au cours de la grossesse*, pp. 28-30.

¹⁰ Cf. Cyril Feidt, *L'élimination de la chlordécone dans les effluents d'élevage*, pp. 26-28.

¹¹ PNSE 3, 2015-2019.

¹² Loi de santé publique (dite « loi Touraine ») No 2016-41 du 26 janvier 2016, art. 1.

susceptibles de concourir à l'altération de la santé des individus, à la fois en considérant la totalité des voies d'exposition¹³ à un polluant ou une nuisance, et quand c'est possible les interactions entre polluants »¹⁴.

De fait, l'environnement est une source multifactorielle d'expositions (ex. physiques, chimiques, biologiques) qui conditionnent l'exposome. Nous sommes exposés à de multiples substances qui peuvent interagir entre elles pour produire des effets néfastes sur la santé. Ces effets sont souvent mal connus, qu'ils soient simultanés, combinés, à long terme... Ainsi, certaines substances théoriquement sans danger pour l'homme peuvent devenir toxiques lorsqu'elles sont mélangées.

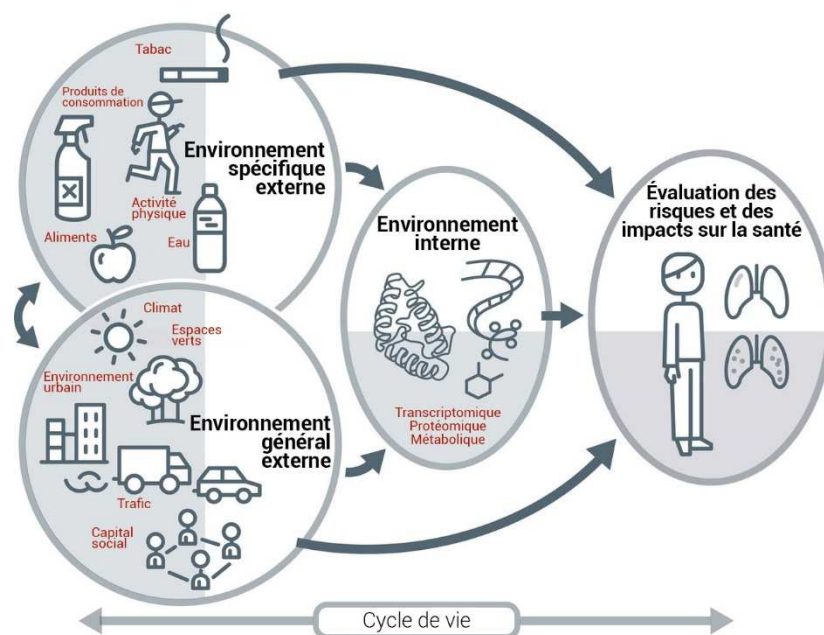


Illustration 2 : L'exposome
(Source : Martine Vrijheid, ISGlobal – Reproduction autorisée)

L'originalité de la notion d'exposome est de faire le lien entre une approche par conditions de vie et une approche par pathologie, répondant ainsi à la question de la continuité. Elle nécessite de prendre en compte de nombreux paramètres et d'associer différentes disciplines : toxicologie, biologie, épidémiologie, métrologie, informatique, mathématiques... La combinatoire élevée des expositions aux agents chimiques, physiques, biologiques, etc. rend délicate la mesure de l'exposition environnementale tout au long de la vie. Aussi de nouveaux développements méthodologiques sont-ils attendus pour que la science de l'exposition devienne pleinement opérationnelle.

Pour améliorer les conseils de prévention primaire vis-à-vis du risque associé aux éthers de glycol, pour les femmes enceintes et leurs enfants en particulier, Cécile Chevrier (2018) propose de mieux évaluer les co-expositions possibles, notamment la part des usages domestiques de produits d'entretien dans cette exposition¹⁵.

De même, en milieu professionnel, les facteurs de risque sont souvent incertains : faut-il les envisager de manière indépendante ou non ? Alicia Torriglia s'interroge, par exemple, sur l'effet des LED en

¹³ Ex. voie respiratoire, cutanée et/ou digestive.

¹⁴ Contribution à l'élaboration du 3^{ème} Plan National Santé Environnement (PNSE 3), Rapport des Groupes de Travail et du Comité d'Appui Scientifique chargés de propositions d'action pour le PNSE 3, juin 2014, p. 17.

¹⁵ Cf. Cécile Chevrier, *Exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol*, pp. 33-34.

association avec des polluants chimiques¹⁶, notamment en milieu professionnel : y a-t-il une aggravation des risques oculaires qui peuvent provoquer un vieillissement précoce de l'œil ? Existe-t-il, au contraire, un effet protecteur ?...

- *Les effets des faibles doses*

D'une manière globale, l'étude des causes environnementales inclut l'effet des faibles doses, de la vulnérabilité à certaines phases de développement, de l'exposition conjuguée à de multiples substances chimiques, mais aussi celle des interactions toxicologiques. En ce qui concerne l'impact des multi-expositions en milieu professionnel, Saadia Kerdine-Römer propose la réalisation d'une étude épidémiologique auprès d'apprentis-coiffeurs pour identifier les molécules les plus à risque (parmi les ammoniums quaternaires) de provoquer des allergies respiratoires et cutanées¹⁷.

Pour établir l'innocuité d'une substance chimique avant sa mise sur le marché, celle-ci est testée séparément, à de fortes doses. Ces tests sont effectués dans des laboratoires accrédités ; de fortes doses sont d'abord administrées à des animaux¹⁸ (espèces modèles), puis progressivement réduites jusqu'à ne plus observer d'effet. C'est, ce qu'on appelle dans le domaine de la toxicologie, la dose sans effet observable¹⁹ (NOEL). Par prudence, cette dose est ensuite divisée par un coefficient de sécurité²⁰ (facteur d'incertitude) pour transposer ce résultat à l'homme. Or, certaines substances théoriquement sans danger pour l'homme peuvent présenter des risques : comment cela est-ce possible ?

Comme l'observe Marc Audebert : « Les doses auxquelles nous sommes exposés sont, *a priori*, bien inférieures aux doses qui seraient toxiques sur un organisme entier »²¹. D'une manière générale, on parle de « faibles doses » pour des expositions inférieures à une valeur de référence (ex. dose journalière tolérable) ou quand tous les outils d'investigation commencent « à ne plus rien voir » (ex. dose sans effet observable).

Cette notion est étroitement liée à celle de seuil. Habituellement, en dessous d'un certain niveau d'exposition, le système immunitaire de l'organisme évite des effets sanitaires²² ; on parle alors d'effet de seuil. En dessous du seuil, on n'observe pas d'effet sur la santé. Pour certaines substances dangereuses comme des molécules cancérogènes, on n'observe pas d'effet de seuil, au moins à l'échelle d'une population. On postule donc que des effets sont possibles même à faibles doses et que c'est la probabilité d'apparition de l'effet délétère qui varie avec la dose. Étudier les effets liés à de faibles expositions chroniques est donc primordial.

Cette problématique est au coeur de la toxicologie moderne. Face à l'utilisation accrue des bioinsecticides Btk, il apparaît ainsi nécessaire à Armel Gallet (2017) d'analyser les risques liés à l'ingestion chronique de faibles doses de ces bioinsecticides²³ et d'anticiper les impacts potentiels à long terme²⁴ (ex. aggravation ou développement de maladies digestives) – un avis de l'Anses²⁵ ayant

¹⁶ Cf. Alicia Torriglia, *L'exposition aux LED et aux polluants chimiques*, pp. 30-32.

¹⁷ Cf. Saadia Kerdine-Römer, *L'exposition professionnelle aux ammoniums quaternaires*, pp. 35-36.

¹⁸ Le rat et le chien pour la toxicologie humaine, une algue et un poisson pour la toxicologie environnementale.

¹⁹ Toutes les doses inférieures sont alors considérées sans danger chez l'animal.

²⁰ Pour gérer l'imprévisible, ce facteur de sécurité varie généralement de 1 à 1.000 – 2 suffirait à protéger d'un effet peu sévère (ex. irritation) et 1.000 des effets très sévères (ex. cancer).

²¹ Cité par Francis Chateaufort et Josquin Debaz, *Turbulences épistémiques et perturbateurs endocriniens #3, Vers une toxicologie combinatoire*, <https://socioargu.hypotheses.org/4657>

²² Mécanismes de défense naturelle.

²³ Sur les professionnels en agriculture et en sylviculture ainsi que sur les jardiniers amateurs.

²⁴ Cf. Armel Gallet, *Les insecticides biologiques Bt*, pp. 37-39.

²⁵ Saisine No 2013-SA-0039 relatif aux risques en termes de sécurité sanitaire liés à l'utilisation de souches de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en tant que substances actives dans des insecticides biologiques (22 juillet 2013).

estimé comme probable la sous-estimation de *Bacillus thuringiensis* ou Bt dans des toxi-infections alimentaires.

Si de nombreuses études épidémiologiques attestent que l'origine des maladies métaboliques (ex. obésité, diabète de type 2) est multifactorielle²⁶, les interactions foie-cerveau forment un sujet émergent. Dans le cadre du projet EPIDEMICMAC (financé en 2017), Laurence Payrastré essaie de comprendre comment le microbiote intestinal²⁷ et les polluants interagissent puis, comment ces interactions complexes convergent vers le système nerveux par voie sanguine et/ou nerveuse. Pour expliquer comment les perturbations métaboliques sont induites par des perturbateurs endocriniens²⁸, elle propose donc de partir d'un triptyque peu étudié : contaminants, microbiote intestinal et cerveau²⁹.

De son côté, Bernard Fromenty (2018) étudie les effets de cocktails de pesticides sur la stéatose hépatique³⁰.



Illustration 3 : Les résidus de pesticides dans l'alimentation (Source : iStockphoto)

- **Les effets « cocktails »**

Depuis l'émergence du concept d'exposome (2005), l'effet cocktail a été démontré sur plusieurs espèces animales, inquiétant les scientifiques qui conjecturent des effets similaires sur la santé humaine. Pour comprendre tous les effets possibles, il faudrait donc être capable d'observer leurs effets simultanés sur un organisme. Expérimentalement, c'est assez difficile et complexe, en raison notamment du nombre de molécules à tester : avec plus de 150.000 substances et composés chimiques, imaginez le nombre de combinaisons possible !

Selon les cas, les effets combinés peuvent être :

1. Nuls (sans interaction notable) ;
2. Antagonistes (l'effet combiné est inférieur à l'effet de l'une des substances) ;

²⁶ Comprenant une composante génétique et une influence certaine du mode de vie (Ex. sédentarité, alimentation calorique élevée, absence d'activité physique).

²⁷ L'ensemble des microorganismes (bactéries) qui se trouvent dans le tube digestif.

²⁸ En l'occurrence, un cocktail de six pesticides utilisés dans le traitement des pommeraies en Occitanie.

²⁹ Cf. Laurence Gamet-Payrastré, *L'impact d'une exposition alimentaire à un mélange de pesticides*, pp. 40-42.

³⁰ Cf. Bernard Fromenty, *Cocktail de pesticides et stéatose hépatique*, pp. 42-44.

3. Additifs (l'effet combiné correspond à la somme des deux effets isolés) ;
4. Synergiques (l'effet combiné est supérieur à la somme des deux effets isolés).

Ainsi, quel que soit l'environnement, l'Homme est exposé à des mélanges d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Face à la complexité de ces mélanges et de leurs mécanismes d'action, il apparaît indispensable, selon Lydie Sparfel, d'acquérir des outils adaptés à la surveillance sanitaire des populations exposées à ces contaminants. Parmi les différents biomarqueurs, les vésicules extracellulaires (VE) affichent aujourd'hui un rôle émergent en toxicologie environnementale³¹.

Bien que l'association entre l'exposition à des pesticides agricoles et la maladie de Parkinson ait été longtemps un sujet d'étude dans le domaine de la santé environnementale, Julien Dairou cherche à identifier clairement les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu : en particulier, l'effet des carbamates sur l'activité de l'enzyme PARK7 (fonction de réparation de la glycation)³².



Illustration 4 : Vers une traçabilité de toutes les expositions (Source : iStockphoto)

Face à l'immensité du champ d'investigation, l'enjeu de la recherche consiste désormais à parvenir à une meilleure prédictibilité de(s) effet(s) cocktails sur la santé humaine. C'est la raison pour laquelle beaucoup s'orientent vers des modèles de prédiction mathématique. Ainsi, des chercheurs de l'Inserm (Irset) et de l'Université de Brunel à Londres, grâce à deux études³³ soutenues par l'Anses, ont démontré en 2017, pour la toute première fois chez l'Homme, une preuve de concept expérimentale³⁴. À partir de onze molécules aux propriétés perturbatrices endocriniennes, ils ont conçu et testé quatre

³¹ Cf. Lydie Sparfel, *Les miroARN circulants comme bioindicateurs d'exposition aux HAP seuls et en mélange*, pp. 44-46.

³² Cf. Julien Dairou, *L'impact des pesticides de la famille des carbamates sur la maladie de Parkinson*, pp. 47-48.

³³ Bernard Jégou, *Effets combinés de mélanges d'anti-androgènes chez l'homme* (Chemix, financement : EST 2012-171) – Frédéric Chalmel, *Implémentation et déploiement de modèles prédictifs multivariés pour l'identification, la classification et la priorisation de nouveaux perturbateurs endocriniens par l'intégration massive de données toxicogénomiques* (ChemPSy, financement : EST 2013-81). En savoir plus : <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/EHP1014>

³⁴ Inserm, *Alerte sur les mélanges de perturbateurs endocriniens pendant la grossesse*, Communiqué de presse du 13 septembre 2017, <https://presse.inserm.fr/alerte-sur-les-melanges-de-perturbateurs-endocriniens-pendant-la-grossesse/29138/>

Lise Loumé, *Perturbateurs endocriniens : alerte sur l'effet cocktail pendant la grossesse*, in. Sciences et Avenir, 18 sept. 2017 : https://www.sciencesetavenir.fr/sante/grossesse/perturbateurs-endocriniens-alerte-sur-l-effet-cocktail-pendant-la-grossesse_116409

France Culture, *Effets cocktails : il n'y a pas que la dose qui fait le poison*, reportage, 24 sept. 2018 : <https://www.franceculture.fr/emissions/la-methode-scientifique/effets-cocktails-il-ny-a-pas-que-la-dose-qui-fait-le-poison>

mélanges mettant en évidence des effets cocktails sur des cellules humaines (issues en l'occurrence de testicule fœtal). En réponse à la question « Combien de fois une molécule est-elle plus puissante en mélange que lorsqu'elle est seule ? », ils ont observé que l'exacerbation pouvait varier d'un facteur 10 à 1.000 en fonction de la molécule considérée.

Pour l'heure, la méthodologie adoptée prouve qu'il est possible de prédire, via un modèle mathématique, un certain nombre d'effets cocktails. Elle ouvre la voie vers une meilleure connaissance scientifique de ces effets, qui demeurent encore méconnus : d'où les incertitudes et controverses sur le sujet. Même si la recherche progresse régulièrement, le chemin risque d'être assez long vers l'évaluation complète et la traçabilité de toutes les expositions.

La surveillance de l'exposition humaine

Aujourd'hui, la surveillance de l'exposition humaine aux polluants environnementaux est une préoccupation majeure en santé publique. D'où la nécessité de développer méthodes et outils d'analyse pour mieux évaluer l'exposition environnementale « de manière décloisonnée et dynamique »³⁵.

Toutefois, en ce qui concerne la qualité de l'eau, les méthodes conventionnelles d'analyse chimique ne permettent pas de détecter les micropolluants (ex. pesticides, résidus de médicaments). Axelle Cadière s'interroge (comment tester la toxicité de ces micropolluants seuls ou en mélange ?) et recherche une alternative aux tests utilisant des modèles animaux³⁶.

De même, détecter des molécules d'intérêt dans des solutions extrêmement diluées constitue une des problématiques posées par la Directive européenne de l'eau. Pour des applications de contrôles environnementales et/ou sanitaires, Jean-François Bardeau (2018) propose ici de développer une méthode innovante: à savoir, des analyses spectrales (utilisant la diffusion Raman exaltée de surface) *via* des supports métalliques nanostructurés³⁷ pour identifier les espèces moléculaires (ex. résidus de médicaments) en très faible concentration au sein de mélanges complexes.

- **« Pas de données, pas de marché »**

Depuis 2006, la réglementation REACH³⁸ s'applique à l'ensemble des substances chimiques. Elle constitue une véritable refonte du système réglementaire européen³⁹. Pour continuer à mettre sur le marché des substances chimiques produites en quantité égale ou supérieure à une tonne par an, les producteurs ou importateurs de la substance doivent procéder à l'enregistrement de celle-ci. Cela signifie qu'ils doivent fournir un certain nombre d'informations sur la fabrication, les usages identifiés et les propriétés (éco)toxicologiques de la substance ; faute de quoi, ils ne pourront plus la commercialiser. C'est le principe : « pas de données, pas de marché ».

Le niveau d'exigences en matière d'informations varie en fonction du tonnage des substances⁴⁰ mises sur le marché. Certaines substances peuvent avoir des effets sur la santé immédiats ou différés, être

³⁵ 3^{ème} Plan national santé environnement, 2015-2019, p. 38.

³⁶ Cf. Axelle Cadière, *Comment mesurer la toxicité des micro-polluants ?* pp. 51-52.

³⁷ Cf. Jean-François Bardeau, *La surveillance de l'eau : vers une mesure de détection innovante*, pp. 49-50.

³⁸ Règlement (CE) n°1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les règles applicables à ces substances (entrée en vigueur le 1^{er} juin 2007).

³⁹ Ce règlement remplace une quarantaine de directives et règlements existants.

⁴⁰ Au-delà d'une quantité égale ou supérieure à 10 tonnes mises sur le marché, le producteur ou l'importateur de la substance doit en plus fournir un rapport sur la sécurité chimique (RSC ou CSR), c'est-à-dire une évaluation des risques

persistantes dans l'environnement, bioaccumulables et toxiques (PBT). D'autres sont dites « préoccupantes », voire « très préoccupantes » comme les substances cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques (CMR). REACh prévoit ainsi une évaluation approfondie des substances pour lesquelles il existe un doute (ou une préoccupation) afin de lever ou confirmer ce doute en permettant, le cas échéant, de demander des informations supplémentaires à l'industriel déclarant.

Cette démarche nouvelle a pour effet de renverser la charge de la preuve des autorités publiques vers l'industrie. En d'autres termes, il revient désormais à l'industriel de démontrer que l'utilisation de sa substance peut se faire sans risque pour la santé humaine ou pour l'environnement.

REACh vise aussi la substitution progressive dans l'Union européenne des substances chimiques les plus dangereuses, en particulier les substances « très préoccupantes » (vPvB).

Avec le nombre croissant de molécules mises sur le marché, il est clair que chacun d'entre nous est exposé simultanément à plusieurs substances chimiques. Il est très difficile de prévoir les effets de ces mélanges. Pour des raisons liées au processus d'homologation des produits chimiques, les études de toxicité se font toujours de manière isolée ; elles ne reflètent donc que des situations théoriques. L'utilisation accrue de nouveaux produits (matériaux, procédés), l'émergence de dispositifs (industriels ou agricoles) corrélés au « progrès » entraînent l'imprégnation des environnements (domestiques, professionnels...) par de multiples substances chimiques. Continuer à se focaliser sur des méthodes conventionnelles serait donc de nature à sous-estimer le risque lié aux expositions simultanées. Comment évaluer, par exemple, la toxicité des produits chimiques composés de plusieurs substances ?

« Conscients que les êtres humains, les animaux et les plantes sont exposés à de nombreuses substances différentes », les ministres de l'Environnement rappellent, dans leurs conclusions, que « les effets de l'exposition conjuguée à de multiples substances chimiques provenant de sources ou de produits uniques sont reconnus dans certaines parties de la législation communautaire et qu'il est nécessaire de développer les méthodes concertées d'évaluation »⁴¹.

Ainsi, dans le cadre de la réglementation REACh, Muriel Vayssade (2019) s'inscrit dans la recherche d'un dispositif innovant pour évaluer les effets des pesticides sous la forme d'aérosols, tels qu'utilisés par les travailleurs agricoles dans l'objectif d'identifier des indicateurs globaux d'effets cocktails⁴².

assortie de propositions de mesures de gestion des risques adéquates pour garantir la sécurité des personnes et de l'environnement.

⁴¹ Conclusions adoptées lors du Conseil européen du 22 décembre 2009 : https://www.consilium.europa.eu/uedocs/cms_data/docs/pressdata/fr/envir/112044.pdf

⁴² Cf. Muriel Vayssade, *Les interactions toxicologiques entre les poumons et le foie*, pp. 53-55

Approches actuelles pour l'évaluation des risques à des mélanges de substances chimiques

Cet article décrit les méthodes actuellement disponibles pour évaluer les risques à des mélanges de substances chimiques

Amélie CRÉPET, ANSES, Maisons-Alfort – Contact : amelie.crepet@anses.fr

Mots-clés : mélange complexe, stratégie d'évaluation, exposition multiple, dose cumulée, additivité (ou relation additivité) contaminant, substance active, produit chimique, environnement, alimentation

Les populations sont exposées via l'environnement, les produits de consommation, l'alimentation, etc. à de multiples substances chimiques qui peuvent interagir et provoquer des effets néfastes sur la santé. En raison de la complexité de ces mélanges, ainsi que des voies d'exposition multiples, le risque lié aux mélanges est difficile à caractériser et les substances continuent à être majoritairement évaluées individuellement. Au cours des dernières années, des méthodes, des concepts et des recommandations ont été proposés pour évaluer les risques des mélanges⁴³. Cet article propose une synthèse des approches et travaux existants autour de deux questions :

1. Quelles sont les substances à étudier en mélanges ?
2. Comment évaluer le risque lié à des mélanges ?

Quelles sont les substances à étudier en mélanges ?

Compte tenu de la multitude de combinaisons possibles, regrouper et prioriser les substances qui doivent être évaluées ensemble est un défi majeur. Une solution consiste à réaliser des évaluations de risque pour des substances ayant des caractéristiques toxicologiques similaires. De cette manière, l'EFSA a proposé de regrouper les substances dans des "*assessment groups*" (AG) selon des critères toxicologiques similaires : organe cible, effet phénotypique spécifique, mode d'action et mécanisme d'action⁴⁴. Cette approche a été mise en oeuvre sur les pesticides qui ont été classés en fonction de leurs effets sur le foie, les glandes surrénales et les yeux, ainsi que sur le développement et le système reproducteur⁴⁵. Des travaux allant jusqu'à l'évaluation du risque ont été réalisés récemment pour le système nerveux et la thyroïde⁴⁶. Pour certaines substances ou organes/effets moins étudiés, le nombre d'études toxicologiques peut être faible voire inexistant, ce qui introduit des incertitudes concernant l'appartenance à un AG. Il est aussi difficile d'affiner les AG, car il existe peu de données sur le mode et le mécanisme d'action. Enfin, cette approche fondée principalement sur les caractéristiques toxicologiques des substances ne tient pas compte de la réalité des expositions pour définir les mélanges.

Ainsi, une autre approche qui utilise l'information provenant des co-expositions pour définir et prioriser les mélanges a été développée. Cette approche qui vise à réduire le nombre de substances en fonction de leur pertinence en terme de co-exposition est d'autant plus nécessaire que le nombre initial

⁴³ Beronius et al. 2020, Boobis et al. 2008, EFSA 2007, 2008, 2019, Fischer et al. 2020, Fox, Brewer, and Martin 2017, WHO 2009.

⁴⁴ EFSA 2013, 2019, Nielsen et al. 2012.

⁴⁵ EFSA 2012, RIVM, ICPS et ANSES 2016.

⁴⁶ EFSA 2020b, a.

de substances à étudier est important et que le temps et les moyens alloués à l'évaluation des risques sont réduits⁴⁷. Différentes méthodes statistiques analysant les dépendances entre les expositions à plusieurs substances ont été développées ces dernières années pour extraire les combinaisons de substances prédominantes et/ou pour définir des groupes de population en fonction de leur profils d'exposition combinée. Une méthode simple pour identifier les substances chimiques présentant une forte probabilité de co-expositions consiste à évaluer les corrélations entre les substances et à éliminer les substances chimiques présentant de faibles corrélations. Les coefficients de corrélation de Pearson (relation linéaire) et Spearman (relation monotone) sont couramment utilisés pour évaluer la force et la direction de l'association entre deux variables. Les substances chimiques qui ont de fortes corrélations entre-elles peuvent être considérées en mélanges. L'analyse de corrélations a été utilisée par Crépet and Tressou (2011) et Crépet et al. (2013) avec une méthode de classification afin d'identifier les mélanges de pesticides selon des profils similaires de niveaux d'exposition. Tamayo-Uria et al. (2019) dans le contexte de l'exposome, ont utilisé les corrélations pour étudier les relations entre de multiples expositions environnementales à partir des données de biosurveillance de plusieurs régions européennes. Cependant, les corrélations ne peuvent être calculées que pour des paires de substances chimiques. Ainsi, des méthodes statistiques plus avancées d'analyse multivariée ont été adaptées pour identifier les mélanges prédominants à partir des co-expositions⁴⁸ ou en passant par les régimes alimentaires⁴⁹. Les auteurs ont proposé de combiner des techniques de réduction de la dimension comme la NMF (*non-negative matrix factorization*) et la SNMU (*sparse non-negative matrix underestimation*) et de classification pour analyser les dépendances entre les expositions et pour définir des groupes de population en relation avec les co-expositions à plusieurs substances chimiques. Su, Mukherjee, and Batterman (2014) ont proposé d'utiliser des copules pour caractériser les structures de dépendance des composants des mélanges dans les mesures d'exposition personnelle aux composés organiques volatils. D'autres méthodes basées sur la fréquence de la co-occurrence ont été appliquées pour identifier les combinaisons chimiques. L'extraction d'ensembles d'éléments fréquents a été appliquée par Kapraun et al. (2017) à l'exposition pour compter les combinaisons de substances chimiques présentes chez les résidents américains et pour identifier les plus courantes.

Enfin, une troisième approche utilise des indices de risque qui combinent niveaux d'expositions et données toxicologiques, afin d'identifier les mélanges prioritaires pour lesquels des données supplémentaires seront collectés ou produites en réalisant des tests ciblés. Par exemple, dans le cadre du projet Euromix, Crépet et al. (2019) partent de la liste des pesticides de l'AG sur la stéatose hépatique et réduisent cette liste en utilisant une sélection basée sur le risque des substances co-occurentes dans les régimes alimentaires de la population européenne. Ici, les expositions sont exprimées en toxicité relative en utilisant des facteurs de puissance relatifs calculés à partir des doses sans effets de chaque substance. L'OMS teste actuellement une approche qui stipule que si le ratio entre exposition et valeur toxicologique de référence de la substance d'intérêt dépasse 10%, celle-ci doit être étudiée en mélange⁵⁰.

Comment évaluer le risque lié à des mélanges de substances chimiques ?

Deux approches sont aujourd'hui proposées⁵¹ :

- L'approche par mélange entier « *whole mixture* » ;

⁴⁷ Crépet et al. 2013.

⁴⁸ Béchaux et al. 2013 ; Crépet et al. en révision ; Traoré et al. 2018.

⁴⁹ Béchaux et al. 2013, Traoré et al. 2016.

⁵⁰ FAO/WHO 2019.

⁵¹ EFSA 2019.

- L'approche par composé « *component based approach* ».

Dans l'approche par mélange entier, le mélange est traité comme une seule entité, similaire à une seule substance chimique, et nécessite donc des informations sur la dose-réponse du mélange. Cette approche est particulièrement intéressante lorsque le mélange est bien connu et stable dans le temps, comme c'est le cas pour les formulations commerciales ou alors lorsqu'il s'agit de zones polluées. La principale limite est que les résultats sont spécifiques au mélange et ne peuvent être extrapolés. Dans l'approche par composé, le risque d'un mélange est évalué en combinant l'exposition et la réponse de chaque substance du mélange et permet donc de prédire la réponse de mélanges variés.

Trois types d'effets mélanges sont distingués :

- L'addition des doses pour les substances ayant un mode d'action similaire ;
- L'addition des réponses pour les substances ayant des modes d'action dissimilaires et indépendants
- L'interaction, qui est observée lorsque l'effet du mélange est plus élevé (synergie ou potentialisation) ou plus faible (antagonisme) que la somme des réponses de chaque substance individuelle.

L'addition des doses est recommandée par plusieurs institutions⁵² comme l'hypothèse à utiliser par défaut pour évaluer les risques des mélanges, en l'absence de preuve d'interactions. Selon les connaissances actuelles, il est considéré que l'approche par addition de doses permet d'estimer correctement les effets combinés des substances chimiques ayant des modes d'actions similaires et garantit un conservatisme adéquat dans le cas de modes d'action indépendants⁵³. En outre, à faibles doses d'exposition, il a été observé que les interactions sont peu fréquentes⁵⁴. Il existe plusieurs méthodes de calcul du risque utilisant l'addition des doses⁵⁵. Elles consistent à faire la somme sur l'ensemble des S substances du mélange, des ratios entre l'exposition (E) et une valeur toxicologique (VT) afin de calculer un indice de risque $\sum_{s=1}^S \frac{E_s}{VT_s}$ ou la somme des ratios inverses $\sum_{s=1}^S \frac{VT_s}{E_s}$ pour calculer une marge d'exposition. La VT établie au niveau de l'organe, de l'effet ou du mode/mécanisme d'action commun, peut ou non inclure le facteur d'incertitude (UF). Vejdovszky et al. (2019) proposent une adaptation de l'index du point de référence (mRPI) aux contaminants chimiques qui permet d'utiliser une valeur toxicologique par effet et un UF par substance. Une valeur de mRPI supérieur à 1 indique que le risque ne peut être écarté.

$$mRPI = \sum_{s=1}^S \frac{E_s \times UF_s}{VT_s}$$

Conclusion

Des méthodes sont donc disponibles aujourd'hui pour évaluer les risques liés aux mélanges de substances chimiques. Elles ont été appliquées à des familles de composés (PCBs, dioxines, et pesticides) sous l'hypothèse d'addition des doses. Ces méthodes restent néanmoins encore à être éprouvées notamment dans le cas de mélanges de substances hétérogènes provenant par exemple, de familles et domaines réglementaires différents comme proposé dans Crépet et al. (en révision).

⁵² EFSA 2013, 2019, SCHER 2012, WHO 2009.

⁵³ Faust 2003.

⁵⁴ EFSA 2019.

⁵⁵ EFSA 2013, 2019, Kortenkamp, Backhaus, and Faust 2009, Sarigiannis and Hansen 2012, WHO 2009.

L'analyse multi-substances dans les différents milieux, la prise en compte des interactions toxicocinétiques et toxicodynamiques, et l'intégration des mélanges en épidémiologie, non discutés ici, sont également des enjeux majeurs pour l'évaluation des risques à des mélanges de substances chimiques.

Références

Béchaux, C., M. Zetlaoui, J. Tressou, J. C. Leblanc, F. Héraud, and A. Crépet. 2013. "Identification of pesticide mixtures and connection between combined exposure and diet." *Food and Chemical Toxicology* 59:191-198. doi: [10.1016/j.fct.2013.06.006](https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.06.006).

Beronius, Anna, Johanna Zilliacus, Annika Hanberg, Mirjam Luijten, Hilko van der Voet, and Jacob van Klaveren. 2020. "Methodology for health risk assessment of combined exposures to multiple chemicals." *Food and Chemical Toxicology* 143:111520. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111520>.

Boobis, A.R., B.C. Ossendorp, U. Banasiak, Paul Y. Hamey, I. Sebestyén, and A. Moretto. 2008. "Cumulative risk assessment of pesticide residues in food." *Toxicology Letters* 180:137-150. doi: [10.1016/j.toxlet.2008.06.004](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.06.004).

Crépet, A., P. Vasseur, J. Jean, P.M. Badot, F. Nesslany, J.V. Vernoux, C. Feidt, and S. Mhaouty-Kodja. En révision. "Integrating selection and risk assessment of chemical mixtures: a novel approach applied to a breastmilk survey."

Crépet, Amélie, Fanny Héraud, Camille Béchaux, M.E. Gouze, S. Pierlot, A. Fastier, Jean-Charles Leblanc, L. Le Hégarat, V. Takakura, V. Fessard, Jessica Tressou, R. Maximilien, G. de Sousa, A. Nawaz, N. Zucchini-Pascal, R. Rahmani, M. Audebert, V. Graillot, and J.P. Cravedi. 2013. "The PERICLES research program: An integrated approach to characterize the combined effects of mixtures of pesticide residues to which the French population is exposed." *Toxicology* 313:83-93. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2013.04.005>.

Crépet, Amélie, and Jessica Tressou. 2011. "Bayesian nonparametric model with clustering individual co-exposure to pesticides found in the French diet." *Bayesian Anal.* 6 (1):127-144. doi: [10.1214/11-BA604](https://doi.org/10.1214/11-BA604).

Crépet, Amélie, Marie Vanacker, Corinne Sprong, Waldo de Boer, Urska Blaznik, Marc Kennedy, Chris Anagnostopoulos, Despo Louca Christodoulou, Jiří Ruprich, Irena Rehurkova, José Luis Domingo, Bodil Hamborg Jensen, Francesca Metruccio, Angelo Moretto, Liesbeth Jacxsens, Pieter Spanoghe, David Senaeve, Hilko van der Voet, and Jacob van Klaveren. 2019. "Selecting mixtures on the basis of dietary exposure and hazard data: application to pesticide exposure in the European population in relation to steatosis." *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 222 (2):291-306. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.12.002>.

EFSA. 2007. "Scientific opinion of the panel on plant protection products and their residues (PPR Panel) on a request of the commission on acute dietary intake assessment of pesticides residues in fruits and vegetables." *EFSA Journal* 538:1-88.

EFSA. 2008. "Scientific opinion of the panel on plant protection products and their residues (PPR Panel) on a request from the EFSA evaluate the suitability of existing methodologies and, if appropriate, the identification of new approaches to assess cumulative and synergistic risks from pesticides to human health with a view to set MRLs for those pesticides in the frame of Regulation (EC) 396/2005." *EFSA Journal* 704:84p.

EFSA. 2013. "Scientific Report on International Frameworks Dealing with Human Risk Assessment of Combined Exposure to Multiple Chemicals." *EFSA Journal* 11 (7):3313.

EFSA. 2019. "Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals." *EFSA Journal* 17(13):5634. doi: [10.2903/j.efsa.2019.5634](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5634).

EFSA. 2020a. "Cumulative dietary risk characterisation of pesticides that have acute effects on the nervous system." *EFSA Journal* 18 (4):e06087. doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6087>.

EFSA. 2020b. "Cumulative dietary risk characterisation of pesticides that have chronic effects on the thyroid." *EFSA Journal* 18 (4):e06088. doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6088>.


FAO/WHO. 2019. "Expert Consultation on Dietary risk assessment of chemical mixtures (Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals) WHO, Geneva, 16-18 April 2019."

Faust, M., Altenburger, R., Backhaus, T., Blank, H., Boedeker, W., Gramatica, P., Hamer, V., Scholze, M., Vighi, M. & Grimme, L.H. 2003. "Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action." *Toxicology* 63:43-63.

Fischer, Benjamin C., Stefanie Rotter, Jens Schubert, Philip Marx-Stoelting, and Roland Solecki. 2020. "Recommendations for international harmonisation, implementation and further development of suitable scientific approaches regarding the assessment of mixture effects." *Food and Chemical Toxicology* 141:111388. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111388>.


Fox, M.A, L.E. Brewer, and L. Martin. 2017. "An overview of literature topics related to current concepts, methods, tools and applications for cumulative risk assessment (2007-2016)." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14 (4):389. doi: [10.3390/ijerph14040389](https://doi.org/10.3390/ijerph14040389).

Kapraun, Dustin F., John F. Wambaugh, Caroline L. Ring, Rogelio Tornero-Velez, and R. Woodrow Setzer. 2017. "A Method for Identifying Prevalent Chemical Combinations in the U.S. Population." *Environmental Health Perspectives* 125


(8):087017. [doi:10.1289/EHP1265](https://doi.org/10.1289/EHP1265). 


Kortenkamp, A., T. Backhaus, and M. Faust. 2009. State of the art report on mixture toxicity.: Final report of a project on mixture toxicology and ecotoxicology commissioned by the European Commission, DG Environment.


Nielsen, Elsa, Pia Norhede, Julie Boberg, Louise Krag Isling, Stine Kroghsbo, Niels Hadrup, Lea Bredsdorff, Alicja Mortensen, and John Christian Larsen. 2012. "Identification of cumulative assessment groups of pesticides." *EFSA Supporting Publications* 9 (4):303p.


Sarigiannis, Denis A., and Ute Hansen. 2012. "Considering the cumulative risk of mixtures of chemicals – A challenge for policy makers." *Environmental Health* 11 (1):S18. [doi: 10.1186/1476-069X-11-S1-S18](https://doi.org/10.1186/1476-069X-11-S1-S18). 

SCHER, SCCS and SCENIHR. 2012. "Opinion on the Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures." 50 pp.

Su, Feng-Chiao, Bhramar Mukherjee, and Stuart Batterman. 2014. "Modeling and analysis of personal exposures to VOC mixtures using copulas." *Environment international* 63:236-245. [doi: 10.1016/j.envint.2013.11.004](https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.11.004). 

Tamayo-Uria, I., L. Maitre, C. Thomsen, M. J. Nieuwenhuijsen, L. Chatzi, V. Siroux, G. M. Aasvang, L. Agier, S. Andrusaityte, M. Casas, M. de Castro, A. Dedele, L. S. Haug, B. Heude, R. Grazuleviciene, K. B. Gutzkow, N. H. Krog, D. Mason, R. R. C. McEachan, H. M. Meltzer, I. Petraviciene, O. Robinson, T. Roumeliotaki, A. K. Sakhi, J. Urquiza, M. Vafeiadi, D. Waiblinger, C. Warembourg, J. Wright, R. Slama, M. Vrijheid, and X. Basagaña. 2019. "The early-life exposome: Description and patterns in six European countries." *Environ Int* 123:189-200. [doi: 10.1016/j.envint.2018.11.067](https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.067). 

Traoré, T., C. Béchaux, V. Sirot, and A. Crépet. 2016. "To which chemical mixtures is the French population exposed? Mixture identification from the second French Total Diet Study." *Food and Chemical Toxicology* 98:179-188. [doi: 10.1016/j.fct.2016.10.028](https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.10.028). 

Traoré, Thiéma, Anne Forhan, Véronique Sirot, Manik Kadawathagedara, Barbara Heude, Marion Hulin, Blandine de Lauzon-Guillain, Jérémie Botton, Marie Aline Charles, and Amélie Crépet. 2018. "To which mixtures are French pregnant women mainly exposed? A combination of the second French total diet study with the EDEN and ELFE cohort studies." *Food and Chemical Toxicology* 111 (Supplement C):310-328. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.11.016>. 

Vejdovszky, K., D. Mihats, A. Griesbacher, J. Wolf, J. Steinwidera, J. Luecklc, B. Jankd, I. Kopackac, and E. Rauscher-Gabernig. 2019. "Modified Reference Point Index (mRPI) and a decision tree for deriving uncertainty factors: A practical approach to cumulative risk assessment of food contaminant mixtures." *Food and Chemical Toxicology* 134:110812.

WHO. 2009. Assessment of combined exposures to multiple chemicals: report of a WHO/IPCS international workshop on aggregate/cumulative risk assesement. World Health Organization.

L'impact sur l'environnement des médicaments en mélange

Détection en milieu aquatique et impact sur organismes vivants de la carbamazépine en mélange avec d'autres substances

Laurence SALOMÉ, CNRS IPBS
UPS/CNRS UMR 5089, Toulouse

Les partenaires : **Florence Géret**, PRES Toulouse
Institut National Universitaire Champollion, Albi

Projet de recherche (de 2017 à 2020) –
Financement : 206.153 € – Contact :
laurence.salome@ipbs.fr

Mots-clés : eau, qualité eau, eau consommation humaine, traitement eau, eau usée, station épuration, eau surface, micropolluant, produit chimique, produit pharmaceutique, médicament antibiotique, carbamazépine, résidu, persistance, détection, biopuce, biosurveillance, organisme vivant, mollusque, planaire, développement, milieu aquatique, in situ

Dans nos régions occidentales, des progrès incontestables ont été réalisés dans les dernières décennies en matière de réglementations des usages de produits chimiques et de traitement des eaux usées domestiques ou des eaux de rejets industriels, nous donnant accès globalement à des eaux de bonne qualité, exemptes de nombreux polluants. Néanmoins, un grand nombre de substances produites par l'activité humaine, appelées « micropolluants », sont omniprésentes dans les eaux à des concentrations inférieures au microgramme par litre ($\mu\text{g/L}$) et constituent un risque pour la qualité de l'eau. Parmi ces micropolluants figurent les résidus de pesticides et de produits pharmaceutiques.

Les résidus de médicaments dans l'eau

L'apport de ces micropolluants aux eaux de surface provient principalement des stations d'épuration (STEP) des eaux usées urbaines qui, actuellement en France, ne sont pas équipées des moyens permettant de les éliminer.

À ce jour, seuls huit produits pharmaceutiques au total ont été inscrits sur les listes de vigilance de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE)⁵⁶ et la réglementation ne fixe aucune limitation sur les médicaments. Cependant, celle-ci est promise à évoluer car la prise de conscience du risque pour l'environnement et la santé humaine est réelle, suite à des analyses chimiques montrant leur forte incidence et des études scientifiques signalant leur impact sur la faune, la flore et les microorganismes aquatiques.

Toxicité environnementale et détection des résidus de médicaments

L'évaluation des risques sanitaires (ERS) reposait jusqu'à présent sur l'étude des effets d'une substance, seule. Or, en conditions environnementales, une substance existe au sein de mélanges complexes avec d'autres substances ou des produits de dégradation. Il est donc nécessaire de tenir compte de ces effets de combinaison.



Illustration 5 : Prélèvement d'échantillons d'eau dans la rivière L'isle (Auteur : Alice Saunier)

De plus, en ce qui concerne l'impact sur les écosystèmes et organismes aquatiques (ex. crustacés, mollusques), la transmission de ces effets d'une génération à l'autre est de plus en plus observée. Il est donc indispensable de considérer aussi des indicateurs d'évolution de

⁵⁶ Directive 2013/39/EU.

populations en milieu naturel (ex. reproduction, développement).

La détection des micropolluants dans l'environnement repose classiquement sur une méthode d'analyse chimique très performante en terme de sensibilité, mais inadaptée à un suivi régulier sur site car basée sur une instrumentation lourde⁵⁷. Elle souffre également d'un manque de rapidité et d'un coût élevé.

La carbamazépine

Le candidat-médicament retenu pour ce projet est un anti-épileptique : la carbamazépine (CBZ), classée comme reprotoxique de catégorie D par la FDA⁵⁸. En raison de sa forte persistance et de son usage thérapeutique régulier, cette molécule pharmaceutique fait partie des molécules les plus fréquemment présentes dans les analyses de tous les cours d'eau et rejets de STEP. Elle est aussi retrouvée dans l'eau destinée à la consommation humaine, mais à des doses présentant un risque sanitaire associé négligeable⁵⁹.

Résistante aux traitements d'eaux usées de routine, la carbamazépine peut être éliminée par des traitements supplémentaires, efficaces mais coûteux (ex. ozonation⁶⁰, adsorption sur charbon actif⁶¹). La CBZ constitue donc un cas d'étude pertinent pour évaluer la faisabilité de sa détection en continu en vue du pilotage d'un

traitement optimisé d'une eau de rejet contaminée.

Le projet de recherche : CARBATOX

CARBATOX propose une approche innovante avec la réalisation de deux objectifs en parallèle : la détection sensible et rapide, à l'aide d'une biopuce à molécules d'ADN uniques originale, et la caractérisation de l'impact sur l'environnement de médicaments en mélange.

Méthodologie

Le projet se décline en deux phases :

1. Prélèvement d'eaux traitées en sortie de STEP raccordée à un hôpital psychiatrique ou de STEP urbaine et d'eaux des milieux récepteurs. Analyses large spectre et haute résolution des échantillons prélevés. Choix des molécules à étudier en combinaison avec la CBZ.
2. Analyses sur biopuce et études écotoxicologiques des échantillons prélevés puis des substances, seules et en combinaison, à différentes concentrations dans des eaux « modèles ». Les mesures sur biopuce évaluent, au travers de l'amplitude du mouvement de particules liées à l'extrémité libre des brins d'ADN ancrés par l'autre extrémité à un support, les changements de longueur effective de brins d'ADN consécutifs à une interaction avec une molécule qui modifie cette longueur effective. Les effets toxicologiques sont observés sur deux organismes clés aquatiques (les mollusques gastéropodes, les planaires ou vers aquatiques) d'un point de vue macroscopique (effets reprotoxiques et embryotoxiques) mais aussi à travers l'étude des effets sur la transcription de

⁵⁷ Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.

⁵⁸ Avec un risque avéré pour le fœtus humain, mais les bénéfices potentiels peuvent justifier l'utilisation du médicament chez les femmes enceintes en l'absence possible de substitution.

⁵⁹ Anses, *Évaluation des risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : méthode générale et application à la carbamazépine et à la danoflaxine*, édition scientifique, février 2013.

⁶⁰ Traitement chimique par oxydation.

⁶¹ Fort pouvoir adsorbant. Le charbon actif peut piéger les composés organiques dissous qui ont échappé en amont aux traitements de routine.

gènes clés des systèmes de reproduction et de développement.

Résultats

Les effluents de STEP sont très chargés en molécules pharmaceutiques et si leur concentration est moindre en aval elles restent présentes en grand nombre dans les eaux des rivières démontrant l'importance d'analyser l'écotoxicité associée à leur présence.

La biopuce à molécules d'ADN uniques détecte la présence dans l'eau d'agents intercalants de l'ADN tels que des antitumoraux, suite à leur interaction directe avec l'ADN, avec un temps de réponse rapide de 30 min, une bonne sensibilité (LOD pouvant atteindre 3nM) et de manière réversible. Une absence de signal a permis aussi de révéler la non-intercalation de la CBZ référencée comme un intercalant dans la littérature. Combinée avec des molécules de reconnaissance, la biopuce devrait permettre la détection spécifique, ultra-sensible et réversible de molécules dans différentes eaux par test de compétition ouvrant la voie à un outil de suivi *in situ* régulier.

Pris individuellement, la CBZ et les deux autres médicaments choisis pour l'étude : diclofénac (anti-inflammatoire) et valsartan (vasculoprotecteur) impactent beaucoup plus la reproduction des planaires que le développement des mollusques. Par contre, lorsque ces médicaments sont en mélange, les mollusques ont une réponse nettement plus marquée que les planaires. Cette différence de sensibilité et de réponse des deux modèles démontre l'importance de multiplier les modèles d'étude et les marqueurs d'effets.



Illustration 6 : Évaluation des risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine (Anses Éditions, Fév. 2013)

Publications :

Single-molecule sensing of DNA intercalating drugs in water, Serres S., Tardin C. and Salomé L. *Analytical Chemistry* 92(12):8151-8158 (2020)
doi: [10.1021/acs.analchem.0c00184](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00184)

La dissémination de l'antibiorésistance en milieu piscicole

Influence de polluants aquatiques et des pratiques d'élevage sur la dissémination de l'antibiorésistance en milieu piscicole

Christophe MERLIN et Xavier BELLANGER, LCPME, UMR 7564 CNRS-Université de Lorraine, Vandoeuvre lès Nancy

Les partenaires : **Sandrine Baron**, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Ploufragan, Unité Mycoplasmodologie, Bactériologie, Antibiorésistance (MBA) – **Thierry Morin**, Anses, Unité Pathologies Virales des Poissons (PVP), Plouzané

Évaluation environnementale, en cours depuis décembre 2018 (durée : 36 mois) – Financement : 163.234 € – Contact : christophe.merlin@univ-lorraine.fr

Mots-clés : pisciculture, élevage, antibiorésistance, dissémination, transfert de gène horizontale, éléments génétiques mobiles, milieu aquatique, médicament antibiotique, médecine, médecine vétérinaire, composé chimique, pression sélection, bactérie, gène, prévalence, écosystème aquatique, exposition risque environnement, marqueur, séquençage, luminescence

La résistance aux antibiotiques est un phénomène global, qui ne connaît ni frontières géographiques ni barrières d'espèces. La dissémination des bactéries dites « résistantes » (ou devenues résistantes) entre humains et animaux impose de considérer l'antibiorésistance dans le cadre d'une stratégie « One Health » (une seule santé) qui prenne en compte à la fois les médecines humaine, vétérinaire et notre environnement. Si l'utilisation massive des antibiotiques, leurs mésusages et les conséquences qui en découlent sur la résistance ont été mises en évidence depuis les années 2000, on sait aujourd'hui qu'un meilleur usage de ces médicaments en médecines humaine et vétérinaire ne suffira sans doute pas à limiter l'ampleur du phénomène. En effet, il semble

qu'au delà de la sélection par les antibiotiques, les mécanismes de propagation de l'antibiorésistance doivent aussi être maîtriser pour contrôler l'évolution de l'antibiorésistance. Paradoxalement, lorsqu'ils sont en concentrations sub-inhibitrices⁶², certains antibiotiques peuvent aussi stimuler la transmission et la diffusion de l'antibiorésistance en favorisant le transfert d'éléments génétiques mobiles, vecteurs des gènes de résistance aux antibiotiques (ARG).

Les éléments génétiques mobiles (EGM)

Avec la découverte des premiers éléments transposables chez le maïs, l'américaine Barbara McClintock⁶³, a jeté les bases du caractère « flexible » des génomes. Cette flexibilité est largement associée aux éléments génétiques mobiles (EGM) également très représentés chez les bactéries où il en existe plusieurs types (ex. les éléments transposables⁶⁴, les plasmides, les intégrons, les élément intégratifs et conjugatifs). Ensemble, ces EGM permettent de capturer et de déplacer des gènes au sein du génome bactérien, mais aussi de les transférer d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre différentes espèces, et peuvent ainsi jouer un rôle critique dans la diffusion des ARG.

Outre les antibiotiques, certains polluants aromatiques, les pesticides ou certains désinfectants (tous susceptibles de contaminer les milieux aquatiques) pourraient aussi induire le transfert d'éléments génétiques mobiles. Pris ensemble, ces informations laissent à penser que la qualité des milieux en termes de polluants pourrait avoir un effet sur l'activité des EGM.

⁶² En thérapeutique ou prophylaxie : début et fin de l'administration d'un antibiotique dans certains tissus, où la diffusion est plus faible.

⁶³ Cytogénéticienne, Prix Nobel de physiologie ou de médecine en 1983.

⁶⁴ Ou transposons.

Les éléments intégratifs et conjugatifs de la famille SXT sont déjà reconnus pour leur rôle prépondérant dans la transmission de l'antibiorésistance parmi les bactéries aquatiques et/ou pathogènes⁶⁵. Le transfert de ces EGM a par ailleurs été démontré comme inductible par des molécules générant un stress génotoxique (un endommagement de l'ADN).

Avec le projet AQUARESIST, il s'agit d'étudier, en systèmes piscicole (modèle truite), les pratiques susceptibles de stimuler la dissémination des ARG par les éléments de la famille SXT.



Illustration 7 : Structure piscicole expérimentale (Auteur : Thierry Morin)

Le projet de recherche : AQUARESIST

Notre connaissance de la dissémination des ARG repose en grande partie sur des évidences rétrospectives, qui rendent difficile l'identification de facteurs interférant avec l'activité des EGM. L'objectif principal du projet AQUARESIST est de démontrer directement l'effet des résidus pharmaceutiques, combinés ou non à d'autres polluants (agricoles, domestiques ou industriels), sur la dissémination d'ARG par les éléments de la famille SXT en milieu aquatique.

Le projet se focalise sur le système piscicole avec la recherche des compartiments

biologiques ou physiques impliqués (ex. eau, poissons, déjections, biofilms de bassin) et l'identification conditions permissives au transfert d'ARG par les EGM pour proposer des actions limitant la propagation des ARG dans les écosystèmes aquatiques.

Méthodologie

Le projet se décline en trois phases :

1. Évaluer la prévalence des éléments SXT par PCR quantitative sur des prélèvements environnementaux issus de structures piscicoles et des rivières avoisinantes ;
2. Identifier les polluants activant le transfert des éléments SXT à partir de bactéries génétiquement modifiées pour exprimer une luminescence lorsque les gènes de mobilité des éléments SXT sont activés⁶⁶. Ces bactéries (ou biosenseurs) seront exposées à des gradients de concentrations d'un panel de molécules pertinentes en contexte piscicole⁶⁷ et les molécules/cocktails actifs seront identifiés par imagerie de luminescence ;
3. Évaluer le transfert des éléments SXT en bassins piscicoles expérimentaux exposés ou non aux polluants identifiés en phase 2.

Résultats préliminaires

La première phase du projet est maintenant terminée. La quantification des éléments SXT dans diverses populations bactériennes aquatiques a permis de mettre en relief des facteurs environnementaux qui leurs seraient permissifs puisqu'ils y sont abondants. Par ailleurs, une approche d'écologie ciblée et sans *a priori* (epicPCR) a permis d'identifier un panel d'hôtes bactériens pour les éléments SXT, encore jamais décrits, qui pourraient participer à la diffusion environnementale de ces éléments et des ARG qu'ils portent.

⁶⁵ En particulier chez *Vibrio cholerae*, dont les serogroupes O1 et O139 sont les agents causant le choléra. Sinon, *Vibrio cholerae* est une bactérie autochtone du milieu aquatique

⁶⁶ Fusions promoteur-*luxCDABE*.

⁶⁷ Antibiotiques, AMM vétérinaires, résidus de pesticides...

La seconde phase, déjà largement avancée, a permis de dresser une liste exhaustive de molécules antibiotiques stimulant l'activité de transfert des éléments SXT. Nos efforts se reportent maintenant sur les effets d'autres polluants aquatiques avant que nous nous penchions sur les effets synergiques.

Traitements des sols contaminés par des composés aromatiques polycycliques

Impact de traitements par oxydations chimiques de sols contaminés aux composés aromatiques polycycliques sur la chimie, le transfert et l'écotoxicité de la pollution

Coralie BIACHE, LIEC (UMR 7360 CNRS/UL)

Les partenaires : **Catherine Lorgeoux**, GeoRessources (UMR 7359 CNRS/UL) – **Maria Larsson**, MTM Reseach Center (Örebro University)

Projet de recherche (en cours depuis 2020) –
Financement ADEME : 222.679 € – Contact :
coralie.biache@univ-lorraine.fr

Mots-clés : composés aromatiques polycycliques, hydrocarbures aromatiques polycycliques, pollution du sol, goudron houille, créosote, traitement sol, remédiation environnementale, réhabilitation, oxydation chimique, permanganate, réaction fenton, mélange complexe, macromolécules, interaction, toxicité, écotoxicité, produits de dégradation, transfert en phase aqueuse

L'Agence européenne pour l'environnement⁶⁸ (EEA) a recensé plus de 2,5 millions de sites potentiellement pollués en Europe⁶⁹ dont la plupart, située près des grandes villes, résulte d'anciennes activités industrielles. Afin de limiter les risques de pollution et remédier à la pression immobilière près des centres urbains, la mise en sécurité et la réhabilitation de ces sites représentent un enjeu majeur, à la fois environnemental, économique et social.

Près de 200.000 sites sont contaminés par des composés aromatiques, dont des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Certains de ces composés proviennent d'anciennes activités sidérurgiques, d'usines à gaz ou de traitement du bois et se retrouvent dans des sous-produits issus de ces activités comme le

⁶⁸ Site internet : <https://www.eea.europa.eu/fr>

⁶⁹ <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/indicators/progress-in-management-of-contaminated-sites-3/assessment>

goudron de houille (sous-produits de cokéfaction et gazéification) et la créosote, (huile extraite du goudron de bois ou de charbon). Seize d'entre eux⁷⁰ sont considérés comme « prioritaires » (néfastes pour la santé) et certains⁷¹ (qui ne sont pas nécessairement réglementés) sont connus pour avoir des propriétés cancérogènes, mutagènes et reprotoxiques (CMR).

Selon le niveau de pollution et les nouveaux projets d'aménagement, des travaux d'assainissement et de dépollution peuvent être nécessaires pour la réhabilitation de ces sites et sols pollués.



Illustration 8 : Sites et sols pollués (Source : Fotolia)

Le traitement des sols

Depuis une quinzaine d'années, on recourt à l'oxydation chimique *in situ* (ISCO) pour dépolluer les sols. Cette technique consiste à injecter un agent oxydant (ex. réactif puissant, liquide, solide ou gazeux) dans le sol pour dégrader les polluants en substances moins nocives ou plus rapidement biodégradables. Parmi les oxydants les plus utilisés, figurent le

permanganate, le persulfate et le réactif de Fenton (péroxyde d'hydrogène combiné au fer).

En ce qui concerne les HAP, le traitement et la phase de suivi (observation de la contamination résiduelle) sont basés uniquement sur la quantification des composés réglementés, c'est-à-dire les seize HAP mentionnés ci-dessus, sans autre considération. Or, ces composés n'apparaissent jamais seuls mais au sein de mélanges complexes, dont l'impact sur l'écosystème et l'évolution pendant le traitement sont méconnus. De plus, si la dose d'oxydant appliquée n'est pas adaptée au niveau de contamination et aux caractéristiques du sol, le traitement peut conduire à la formation de sous-produits (CAP oxygénés) pouvant être tout aussi, voire plus toxique que les HAP parents.

Les tests de toxicités, utilisés sur des composés seuls, sont donc loin d'être représentatifs de la contamination réelle car ils ne prennent pas en compte les effets dits « cocktail » ou multi-stress.

Il est donc important d'améliorer la caractérisation de ces différentes familles moléculaires, en particulier des macromolécules issues de la contamination (sous-produits). En effet, il est nécessaire de les identifier et de connaître leur évolution (transformation, altération, redistribution, stabilisation) dans l'environnement selon les différents traitements appliqués. Le couplage de ces données chimiques avec des indicateurs biologiques permettra d'évaluer l'impact potentiel de chacune de ces familles moléculaires sur l'écosystème.

Le projet de recherche : ImOTEP

L'objectif principal du projet ImOTEP est d'améliorer les connaissances sur la contamination des sols par les composés aromatiques polycycliques (CAP), qui se limitent exclusivement aujourd'hui aux seuls HAP. Il s'agira de déterminer l'impact des

⁷⁰ Présentation des 16 HAP classés prioritaires par l'US EPA :

https://www.researchgate.net/figure/Presentation-des-16-HAP-classes-prioritaires-par-IUSEPA_fig1_41308506

⁷¹ Origines et risques sanitaires liés à la présence d'anthraquinone dans les eaux destinées à la consommation humaine, Anses, Édition scientifique, juil. 2011,

<https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX2010sa0184Ra.pdf>

traitements par oxydation chimique appliqués sur des sols contaminés par des CAP sur :

- La chimie de leurs fractions moléculaires ;
- Le potentiel écotoxique de ces mêmes fractions dans les sols et l'eau (ex. liquide résiduel et lixiviats) ;
- Le mode d'action de ces contaminants.

Méthodologie

Pour atteindre ces objectifs, il est nécessaire de combiner approches chimique et biologique. Les sites et sols pollués seront sélectionnés en fonction du niveau de disponibilité et de leur teneur en CAP. Dans un premier temps, ils seront caractérisés d'un point de vue chimique et ecotoxicologique. Ils seront modifiés (i) selon différents pré-traitements permettant de prendre en compte les fractions disponibles et résiduelles de la contamination et (ii) par l'application de différents oxydants. L'impact de ces traitements/prétraitements sur les réponses biologiques et chimiques sera étudié. Une deuxième phase permettra d'investiguer plus précisément les mécanismes impliqués dans les réponses observées en ciblant des fractions spécifiques de la contamination.



Illustration 9 : Origines et risques sanitaires liés à la présence d'antraquinone dans les eaux destinées à la consommation humaine (Anses, Édition scientifique, juil. 2011)

L'élimination de la chlordécone dans les effluents d'élevage

Dégradation de la chlordécone dans les effluents d'élevage par voie méthanogène

Cyril FEIDT, Université de Lorraine, URAFPA, ENSAIA, Vandoeuvre-lès-Nancy

Les partenaires : **Stéphane Pacaud**, Université de Lorraine, Plateforme Méthanisation, ENSAIA, Vandoeuvre-lès-Nancy – **Pierre-Loïc Saaidi**, CEA/DRF/IBFJ/Genoscope/UMR 8030, Évry

Étude de faisabilité en cours (depuis 2019) –
Financement : 43.264 € - Contact : cyril.feidt@univ-lorraine.fr

Mots-clés : chlordécone, effluent, élevage, bovin, excréation, fèces, dégradation, anaérobiose, biotransformation, méthanisation, agriculture, produit alimentaire, énergie renouvelable, développement durable, Antilles françaises, Guadeloupe, gestion risque, sécurité sanitaire, santé publique, métabolisme, métabolite, produit de transformation, contamination, polluant organique persistant

La problématique de la chlordécone (CLD) dans les tissus animaux a émergé en 2009 suite aux contaminations constatées notamment dans les carcasses bovines. Des premiers projets de recherche⁷² ont été initiés pour identifier les pratiques d'élevage à risque et comprendre le devenir de la molécule chez les animaux d'élevage terrestre. La demi-vie⁷³ de la CLD étant relativement courte chez l'animal, une piste de gestion est apparue qui consiste à décontaminer les animaux avant envoi à l'abattoir. Cette piste n'est pas unique, mais elle s'intègre dans un ensemble de mesures mises en place avec les éleveurs comme par exemple : éviter l'abreuvement dans des mares ou des cours d'eau contaminés, récupérer l'eau de pluie, etc.

⁷² Projets Chlordepan, Chlordel, INSSICCA (financé par le PITE Martinique en 2016 puis par l'ANR en 2017).

⁷³ Temps nécessaire pour que la substance active perde la moitié de son activité (efficacité).

Vers le zéro chlordécone

L'enjeu de la maîtrise de la contamination des animaux terrestre est d'autant plus fort que la limite maximale de résidus (LMR) a été revue à la baisse tout récemment⁷⁴ et qu'une volonté sociétale d'aller vers le zéro chlordécone est très forte aux Antilles.



Illustration 10 : Les animaux d'élevage aux Antilles (Source : iStockphoto)

Deux stratégies se dégagent aujourd'hui :

- En Martinique, c'est une stratégie de gestion individuelle avec accompagnement des éleveurs⁷⁵ ;
- En Guadeloupe, c'est une organisation plutôt centralisée⁷⁶ qui vise à regrouper de jeunes bovins contaminés⁷⁷ et à les élever dans une zone non « chlordéconée », sur une période assez longue, pour s'assurer d'une conformité des denrées animales au moment de l'abattage. Ce qui revient potentiellement à déplacer la « chlordécone » d'une zone contaminée vers une zone propre. En effet, si le bovin se décontamine, c'est qu'il évacue la CLD sous forme native ou de métabolites.

⁷⁴ Arrêté du 25 janvier 2019.

⁷⁵ Par le Groupement de Défense Sanitaire (GDS 972) en concertation avec la Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt (DAAF 972).

⁷⁶ DAAF 971 et 972, DGAI en partenariat avec l'Inra URZ et l'ITEL (nouvel Institut Technique remplaçant IKARE).

⁷⁷ C'est-à-dire issus d'élevages en zone contaminée.

L'élimination de la chlordécone chez l'animal

L'élimination de la CLD se fait par deux voies : le métabolisme et l'excrétion. Contrairement à son caractère persistant dans l'environnement, la CLD est assez facilement métabolisée chez l'animal non rongeur. Elle se transforme dans le foie, sous l'action d'une enzyme⁷⁸, en chlordécol (CLD-OH) : métabolite qui, après avoir subi une conjugaison⁷⁹, peut être excrété par voie biliaire ou par voie urinaire.

Chez la brebis, par exemple, les calculs de clairance⁸⁰ fécale permettent de montrer que la CLD est excrétée à 2/3 sous sa forme d'origine et à 1/3 sous la forme de son métabolite (CLD-OH). Il est donc important, en cas de déplacements d'animaux, de maîtriser le flux potentiel de CLD et de CLD-OH via les effluents d'élevage.

Le projet de recherche : DECHLORMETH

L'originalité du projet DECHLORMETH repose sur le traitement de la CLD dans une matrice qui n'a jamais été investiguée jusqu'à présent : les effluents d'élevage. Compte-tenu des stratégies de gestion différentes dans les Antilles françaises, cette étude se focalise sur la Guadeloupe, mais les enjeux sont similaires en Martinique.

Le territoire de la Guadeloupe vise 100% d'autonomie énergétique pour 2030 (contre 20% aujourd'hui). Parmi la palette des énergies renouvelables, figurent l'hydraulique (8,7 MW), la géothermie (14,5 MW), l'éolien (27 MW), le photovoltaïque (64 MW) et la biomasse (62 GW), sous forme de bagasse⁸¹ principalement. La forme de valorisation de la biomasse passe actuellement par l'incinération. Or, cette technique utilise l'ensemble du carbone empêchant son retour dans les sols ; ce

qui n'est pas souhaitable en raison de la faible diversification des cultures et de la nature des sols (argiles, en particulier). Cette utilisation ne permet pas le stockage du carbone, qui est relâché dans l'atmosphère lors de la combustion, contrairement à l'application au sol qui peut augmenter le pool de carbone séquestré.

Pour maintenir le taux de carbone dans les sols insulaires, la méthanisation pourrait être vue comme une solution médiane entre la combustion et le compostage⁸². D'où la question : la CLD peut-elle être dégradée, avec une efficacité suffisante, dans un fermenteur méthanogène (méthaniseur) ?

Méthodologie

Au-delà de l'obtention d'une réponse (positive ou négative) à cette question, deux « verrous » scientifiques devront être levés :

- La capacité à mettre en évidence la dégradation de la CLD et de ses métabolites⁸³ dans les effluents d'élevage ;
- L'ajustement des paramètres de fermentation.

Les différentes étapes consisteront donc à suivre la dégradation de la chlordécone⁸⁴ en complexifiant le milieu progressivement. En effet, une des clés sera la capacité à extraire, puis quantifier la chlordécone dans une matrice aussi complexe que le digestat⁸⁵. Une seconde étape visera à étudier le devenir du CLD-OH également présent dans les effluents d'élevage. Même si une biominéralisation complète de la

⁸² Amende le sol en conservant une partie du carbone, mais ne fournit pas d'énergie.

⁸³ Le postulat méthodologique initial repose sur le fait que les métabolites de type monohydrochlordécone (A1 et A2) et polychloroindène B1 sont des métabolites clé dans la dégradation de la chlordécone.

⁸⁴ À ce stade, c'est bien la démonstration d'une transformation biologique qui est recherchée et non pas son optimisation.

⁸⁵ Résidu du processus de méthanisation (digestion anaérobie).

⁷⁸ Aldo-céto réductase hépatique.

⁷⁹ Phase de transfert.

⁸⁰ Capacité à se débarrasser d'une substance donnée.

⁸¹ Résidu fibreux de canne à sucre.

CLD est visée, il n'est pas exclu qu'un certain nombre de métabolites/produits de transformation se forment. Un travail d'analyse et de recherche de ces composés sera donc effectué en parallèle. Toutes ces données permettront aux acteurs locaux d'arbitrer les différents scénarios de gestion du risque sanitaire et environnemental.



Illustration 11 : Chaire Agrométhé, filière industrielle – ENSAIA, École de l'Innovation et de la Transition, Nancy

Co-exposition aux insecticides et au virus Zika au cours de la grossesse

Impact de la co-exposition aux insecticides et au virus Zika au cours de la grossesse sur le développement neurologique de l'enfant

Philippe QUÉNEL, Laboratoire d'étude et de recherche en environnement et santé, EHESP, UMR Inserm 1085-Irset, Rennes

Les partenaires : **Luc Multigner**, **Cécile Chevrier**, **Manik Kadawathagedara** et **Sylvaine Cordier**, Équipe 3ERD, Unité Inserm-Irset 1085 Rennes et Pointe-à-Pitre – **Bruno Hoen**, Inserm-CIC 1424, Pointe-à-Pitre – **Gina Muckle**, École de psychologie, Université Laval et Centre de recherche du CHU de Québec, Canada

Étude de cohorte mère-enfant (durée : 18 mois) –
Financement Écopyto : 199.628 € - Contact :
Philippe.QUENEL@ehesp.fr

Mots-clés : interaction, exposition multiple, grossesse, système nerveux central, enfant, arbovirus, Guadeloupe, insecticides, arbovirose, tropiques, cohorte mère-enfant, épidémie

Le climat tropical se caractérise par de fortes chaleurs et des taux d'humidité très élevés. Il favorise le développement de nombreuses nuisances biologiques qui affectent de multiples activités économiques (ex. agriculture, élevage) et la santé de l'homme. Cela concerne aussi la prolifération d'insectes nuisibles comme les moustiques vecteurs d'arbovirus.

La Guadeloupe

Située dans l'archipel des Antilles, la Guadeloupe est concernée par un usage important (présent et/ou passé) d'insecticides :

- La culture bananière⁸⁶ est l'une des activités agricoles utilisant le plus de pesticides, principalement carbamates et organophosphorés. De plus, la

⁸⁶ Et dans une moindre mesure, la culture de la canne à sucre.

Guadeloupe subit une pollution chronique au chlordécone, un insecticide organochloré employé entre 1973 et 1993 pour lutter contre le charançon du bananier. De fait de sa faible dégradation, le chlordécone est toujours présent dans les sols et contamine les eaux de consommation et de nombreuses denrées alimentaires, végétales et animales. Cette pollution a entraîné une contamination généralisée des populations adultes, femmes enceintes, nouveaux-nés et enfants. En dépit des mesures de protection mises en place par les autorités au cours de ces quinze dernières années, la pollution est toujours présente.

- La lutte contre les moustiques a principalement recours à des insecticides de la famille des pyréthrinoïdes⁸⁷.



Illustration 12 : Co-exposition aux insecticides et au virus Zika au cours de la grossesse (Source : iStockphoto)

Le virus Zika

Le virus Zika (ZIKV) a touché la Guadeloupe en avril 2016. Le pic épidémique a été atteint la première semaine de juin avec 2 760 cas. Au total, l'épidémie a duré vingt-deux semaines avec plus de 30 500 cas, dont 639 cas biologiquement confirmés par RT-PCR⁸⁸ chez des femmes enceintes.

⁸⁷ Concernant les usages domestiques, il s'agit principalement d'insecticides de la famille des organophosphorés ou des pyréthrinoïdes.

⁸⁸ Transcription inverse (RT) suivie d'une PCR.

Le projet de recherche : ZIP

En raison de la co-exposition de la population guadeloupéenne à des arboviroses à tropisme neurologique (comme l'infection à ZIKV) et à des insecticides ayant un potentiel de neurotoxicité, il apparaissait pertinent d'étudier les conséquences d'une exposition conjointe, au cours de la grossesse, à ces agents sur le neuro-développement des enfants. L'épidémie de ZIKV, qui sévissait en Guadeloupe, constituait une opportunité pour étudier l'interaction d'une exposition conjointe au ZIKV et aux insecticides dans la survenue d'anomalies morphologiques et fonctionnelles du développement du système nerveux : du fœtus à la naissance, du nourrisson à l'âge de 18 mois.

Méthodologie

La population de l'étude ZIP a porté sur 740 femmes incluses dans l'étude multicentrique ZIKA-DFA-FE⁸⁹ accouchant à la maternité du CHU de Pointe à Pitre/Abyes (Guadeloupe) et 421 enfants pour lesquels un suivi de leur développement neuropsychologique a pu être réalisé à l'âge de 18 mois :

- Les expositions à des composés neurotoxiques persistants ont été estimées par la mesure de leurs concentrations dans des matrices biologiques (i.e. sang, plasma) à partir de prélèvements réalisés chez les mères à l'occasion de leur accouchement et un prélèvement de cheveux⁹⁰ a été réalisé chez la mère pour doser des insecticides⁹¹ non persistants pyréthrinoïdes et autres ;

⁸⁹ Étude observationnelle des conséquences de l'infection à virus Zika au cours de la grossesse pendant l'épidémie des départements français d'Amérique (DFA) de l'année 2016 : mise en place par le CIC Inserm 1424 dans les DFA.

⁹⁰ Mèche compressée de 2 mm de diamètre, coupée le plus près possible du cuir chevelu et sur une longueur de 9 cm si possible (permettant de couvrir une durée de grossesse normale)

⁹¹ Molécules mères et/ou métabolites.

- Un questionnaire a également été posé par interview à chaque femme ayant accouché pour recueillir les usages de produits de lutte contre les insectes et d'autres données permettant de prendre en compte les facteurs de confusion possibles dans les mesures d'association (ex. situation familiale, activité professionnelle...).

Premiers résultats

Les femmes incluses dans l'étude ZIP étaient âgées en moyenne 30 ans à l'accouchement ; 61% d'entre elles étaient multipares et environ 40 % avaient suivi des études supérieures. La majorité des femmes (90%) étaient non fumeuses. L'âge gestationnel à l'accouchement était en moyenne de 38 semaines d'aménorrhée ; les nouveau-nés pesaient environ 3kg et leurs périmètres crâniens étaient de 34 cm en moyenne.

Un peu plus de 6% des femmes incluses dans l'étude ZIP ont été infectées par le ZIKV avant la grossesse, 27% durant leur grossesse et 27% n'ont pas été infectées par le virus. Pour près de 40% des femmes, le statut d'infection au virus n'a pu être déterminé (par défaut de tests biologiques prescrits dans le cadre de l'étude observationnelle ZIKA-DFA-FE ou du fait de résultats ininterprétables).

Concernant les composés persistants parmi les 15 analysés, 6 (β -HCH, HCB, PCB138, PCB180, PCB153, DDE) ont été détectés avec une fréquence de détection > 70% ; 6 n'ont jamais été détectés (Dieldrine, γ HCH, PCB101, PCB52, PCB31, Heptachlore) et 2 l'ont été avec une fréquence intermédiaire (chlordécone et PCB 118). Les insecticides non persistants sont toujours en cours d'analyse.

Les résultats épidémiologiques de cette étude seront disponibles au cours du deuxième semestre 2021.

L'exposition aux LED et aux polluants chimiques

Impact rétinien des interactions toxiques entre les polluants des milieux publics et professionnels et la lumière bleue émise par les LED d'éclairage

Alicia TORRIGLIA, Inserm U1138, Paris

Étude de faisabilité (de 2017 à 2019) –
Financement : 43.707 € – Contact :
alicia.torriglia@inserm.fr

Mots-clés : rétine, macula, altération, vision, décollement, cécité, dégénérescence maculaire, maculopathie, rétinopathie, facteur risque, évaluation risque, éclairage, diode électroluminescente, lampe LED, lumière bleue, luminance, stress oxydant, interaction, polluant, pesticide, atrazine, hydrocarbures aromatiques polycycliques, benzo[a]pyrène, solvant, acétone, polluant organique persistant, éthanol, nanoparticule, particule fine, physiopathologie, exposition professionnelle, étude faisabilité

La rétine, membrane sensitive du fond de l'œil, est soumise à différents stress et facteurs environnementaux qui peuvent conduire à son altération et à la cécité. Paradoxalement, la lumière est l'un de ces facteurs. Ainsi, il a été démontré que l'exposition à la lumière du soleil, dans le jeune âge, pouvait être un facteur de risque pour les stades précoces de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA)⁹².

Depuis les années 2000, l'éclairage par LED (diode électroluminescente) se généralise dans le cadre des politiques d'économie d'énergie et du développement technologique : objets lumineux, éclairages portatifs, rétro-éclairage d'écrans, feux de véhicules... La multiplication de ces dispositifs (systèmes) relance le problème de la toxicité rétinienne induite par la lumière, car les LED présentent une forte luminance et un spectre d'émission riche en lumière bleue.

⁹² « *The Beaver Dam Eye Study* », menée sur 5 ans, comportait environ 3.000 personnes.

L'éclairage par LED

Jusqu'à dans les années 1990, les LED étaient principalement utilisées comme témoin lumineux⁹³ dans les équipements électroniques. Avec la création de la première LED bleue, il est devenu possible, en la recouvrant d'une couche de phosphore (habituellement jaune) d'obtenir une lumière blanche suffisamment intense pour être utilisée dans l'éclairage. Si, dans le spectre d'une lampe, la proportion de bleu est grande, la lumière ressemble à celle du soleil de midi. Ce qui lui donne la possibilité d'induire un stress oxydant au niveau des tissus recevant la lumière.

Cette toxicité de la lumière bleue pour la rétine avait conduit l'Anses en 2010 et en 2019 à :

- Émettre un avis réservé⁹⁴ quant à leur sécurité oculaire ;
- Mettre en évidence une inadéquation des normes actuelles, peu adaptées à ce nouveau type d'éclairage.

Chez l'Homme, la lumière bleue comporte un risque de développer une maculopathie d'autant plus grand que le sujet est jeune, car les yeux des enfants sont beaucoup plus perméables à la lumière que ceux des adultes. Tel est le cas aussi pour certains professionnels, particulièrement exposés à la lumière, comme ceux qui participent à la fabrication et à la maintenance des LED.

Les interactions avec les autres polluants

Si un des effets délétères des LED est d'induire un stress oxydant au niveau des tissus recevant la lumière, il a été montré qu'un grand nombre de polluants chimiques pouvaient aussi causer un stress oxydant. Parmi eux, figurent les pesticides (ex. atrazine), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (ex. benzo[a]pyrène), les solvants (ex. acétone), les

polluants organiques persistants, les nanoparticules et les particules fines, etc.



Illustration 13 : Effets sanitaires des systèmes d'éclairage utilisant des diodes électroluminescentes (Anses, Édition scientifique, oct. 2010)

Ces polluants environnementaux sont de plus en plus présents dans notre vie quotidienne. Or, le problème des effets combinés d'éléments toxiques est un enjeu majeur de l'évaluation des risques, car ces effets dits « cocktail » sont très difficiles à estimer. Or, les effets de l'interaction des LED avec d'autres polluants (synergie ou antagonisme) sur la rétine n'ont pas été, à notre connaissance, étudiés.

Le projet de recherche : TOXI-LED

L'objectif de cette étude de faisabilité était de réaliser, sur la rétine neurale et pigmentaire, une première évaluation des effets de composés toxiques retrouvés couramment dans les lieux d'habitation et les milieux professionnels, suite à une exposition à la lumière émise par les LED. La première approche envisagée portait sur l'analyse des

⁹³ Les LED n'existaient alors qu'en rouge, jaune ou vert.

⁹⁴ Anses, *Effets sanitaires des systèmes d'éclairage utilisant des diodes électroluminescentes (LED)*, Édition scientifique, octobre 2010.

conséquences de la présence de l'un de ces composés sur le changement des effets phototoxiques induits par les LED « blanches ».

Méthodologie

Afin d'évaluer ces effets combinés, des rats Wistar⁹⁵ ont été choisis comme modèle animal :

- L'exposition lumineuse a été réalisée avec des LED Xanlite évolution, les plus courantes dans le commerce⁹⁶ ;
- En association avec l'exposition aux LED, huit polluants ont été testés⁹⁷ : le benzo[a]pyrène (BaP), le bisphénol S, la mélamine, l'atrazine, l'éthanol, l'acétone et des nanoparticules métalliques⁹⁸.

Résultats

Nos résultats, bien que préliminaires, nous ont permis de faire une première sélection vis-à-vis de la toxicité des polluants pour la rétine et de l'influence de ces composés sur la phototoxicité des LED :

- L'éthanol, l'atrazine ainsi que le bisphénol S, en traitement seul ou en association avec les LED, n'ont pas montré de toxicité vis-à-vis de la rétine ;
- Par contre, le dioxyde de silicium (SiO₂) pourrait avoir un effet protecteur⁹⁹ par rapport à la lumière LED, hypothèse qui reste à confirmer ;
- Quant aux autres polluants, cette étude démontre des effets « cocktail » avec une

toxicité accrue de la lumière des LED en présence de benzo[a]pyrène (BaP), de mélamine et de nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de zinc. L'étude de ces interactions doit être considérée comme une recherche à mener en priorité. En effet, le fait d'altérer la barrière hémato-rétinienne externe peut être un facteur aggravant de pathologies pré-existantes et fréquentes comme la rétinopathie diabétique. De plus, le BaP est un des principaux constituants de la fumée de cigarette. Or, le premier facteur de risque pour la DMLA est le tabagisme.



Illustration 14 : Effets sur la santé humaine et sur l'environnement des diodes électroluminescentes (Anses Éditions, avril 2019)

⁹⁵ Mâles âgés de six semaines.

⁹⁶ Sur une période de 8 heures à 1.000 lux, pendant quatre jours.

⁹⁷ Initialement envisagé, le White Spirit a posé des difficultés dans son administration.

⁹⁸ Dioxyde de titane (TiO₂), dioxyde de silicium (SiO₂) et oxyde de zinc (ZnO).

⁹⁹ Le traitement au SiO₂ en association avec la lumière LED semble induire une diminution de l'expression de la GFAP (protéine acide fibrillaire) au niveau de la neurorétine ainsi qu'une diminution du nombre de photorécepteurs apoptotiques par rapport à une simple exposition au LED.

Exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol

Exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol et usages domestiques de produits cosmétiques et d'entretien

Cécile CHEVRIER, Inserm, Rennes

Les partenaires : **Ronan Garlantezec**, CHU de Rennes, Service de santé publique et Épidémiologie – **Barbara Le Bot**, EHESP, LERES, Rennes – **Gaël Durand**, LABOCEA, Plouzané

Étude d'expologie en cours (2019-2021) –
Financement : 174.293 € - Contact :
cecile.chevrier@univ-rennes1.fr

Mots-clés : produit chimique, composé chimique, composé amphiphile, solvant, exposition, femme enceinte, prélèvement urine, métabolite, éthers de glycol, cosmétique, produits d'hygiène et de soins, usage domestique, produit nettoyage, environnement intérieur, prévention primaire

Les éthers de glycol sont des substances chimiques très courantes, qui appartiennent au groupe des composés organiques volatils (COV). Ce sont des molécules qui constituent une famille de plus de quatre-vingt dérivés dont une trentaine est utilisée dans de nombreux produits en France, tels que les peintures aqueuses, les vernis à parquets, les produits ménagers, les produits cosmétiques, les teintures capillaires, les médicaments...

Ce sont des solvants amphiphiles, c'est-à-dire composés d'une partie hydrophile¹⁰⁰ et d'une partie hydrophobe¹⁰¹. Ce qui leur confère des propriétés remarquables, mais ces qualités peuvent aussi avoir des effets délétères pour les organismes vivants. Certains ont une toxicité reconnue, notamment en milieu professionnel, comme les dérivés de l'éthylène glycol (ex. EGBE, EGME et EGEE).

Les éthers de glycol ont fait l'objet de plusieurs expertises et recommandations. Outre

l'amélioration des connaissances toxicologiques, l'Afsset recommandait en 2008 « d'évaluer la toxicité des éthers de glycol, en particulier celles susceptibles de renseigner leurs effets sur la reproduction et le développement »¹⁰² : effets sur la reproduction, le développement du fœtus, effets sur le système immunitaire...

Les métabolites

Depuis ces expertises, les travaux menés par notre équipe de recherche montrent la présence de métabolites¹⁰³ urinaires d'éthers de glycol chez 100% des femmes enceintes¹⁰⁴ et 100% des enfants¹⁰⁵ - différents laboratoires ayant été impliqués dans ces dosages, l'existence d'un biais analytique est peu probable¹⁰⁶. D'autres travaux suggèrent un lien entre les concentrations urinaires maternelles à certains de ces métabolites d'éthers de glycol et une fécondité diminuée, un risque augmenté de malformations congénitales et des performances diminuées à des tests d'intelligence chez l'enfant de six ans.

Il apparaît donc nécessaire de mieux caractériser l'exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol, leurs co-expositions possibles et leurs sources d'exposition en population générale. Parmi ces éthers de glycol :

- Le 2-phénoxyéthanol est utilisé dans les produits dermatologiques (ex. crème pour la peau, crème solaire) ; il est métabolisé essentiellement sous forme d'acide phénoxyacétique (PhAA), qui se retrouve presque en totalité dans l'urine.

¹⁰² Avis de l'Afsset relatif aux recommandations de recherche à formuler sur la toxicité des éthers de glycol, septembre 2008.

¹⁰³ Produit intermédiaire qui apparaît dans l'organisme au cours du métabolisme.

¹⁰⁴ Cohorte mères-enfants PELAGIE, www.pelagie-inserm.fr.

¹⁰⁵ Id.

¹⁰⁶ Ces résultats sont aussi corroborés par des travaux allemands et français récents en population générale adulte.

¹⁰⁰ Soluble dans l'eau.

¹⁰¹ Ou lipophile (soluble dans les corps gras).

- Le 2-(2éthoxyéthoxy) éthanol est un solvant utilisé dans les cosmétiques et produits d'entretien (ex. teintures à bois, vernis) ; il est métabolisé essentiellement sous forme d'acides éthoxy- /éthoxyéthoxy- acétiques (EAA/EEAA), excrété en grande partie dans les urines.



Illustration 15 : Exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol (Source : iStockphoto)

Le projet de recherche : Glycerin

Bien qu'omniprésente, l'exposition de la population générale aux éthers de glycol est, à ce jour, très peu caractérisée. L'objectif du projet Glycerin est de caractériser l'exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol (dont le 2-phénoxyéthanol) et d'estimer la contribution des usages domestiques de produits cosmétiques et de produits d'entretien ménager dans cette exposition :

- En étudiant la variabilité des concentrations urinaires de métabolites d'éthers de glycol, leurs associations avec d'autres composés chimiques (ex. parabènes) ;
- En y associant un recueil détaillé des usages de produits cosmétiques et un schéma d'étude interventionnelle (avant/après) ciblant l'usage de produits d'entretien.

Les résultats de ce projet d'expologie pourraient à terme aider à améliorer les conseils de prévention primaire vis-à-vis du risque possible associé à ces composés

chimiques, pour les femmes enceintes et les enfants en particulier.

Méthodologie

Une trentaine de femmes enceintes¹⁰⁷ seront recrutées en début de grossesse dans des cabinets de gynécologie obstétrique à Rennes (2^e semestre 2020). Elles seront suivies à trois temps de leur grossesse : 1^{er} trimestre, 3^{ème} trimestre avant/après la substitution de tous les produits d'entretien du ménage par des produits sans éthers de glycol (2020/1^{er} trimestre 2021). Des prélèvements urinaires par période de 24h complètes seront collectés. Un agenda précis sera rempli par la femme elle-même rapportant l'usage de tous les produits cosmétiques (ex. beauté, hygiène, parfum, soins) et des photos des produits seront prises.

Des dosages chimiques seront ensuite réalisés dans les différents prélèvements (mi-2021) ; d'autres composés contenus également dans les produits cosmétiques (ex. parabènes dans un premier temps, et selon d'autres sources de financement possible des phtalates et autres conservateurs) seront analysés. Les premiers résultats de ce projet sont attendus fin 2021.

¹⁰⁷ Effectif équivalent à la littérature existante sur les phtalates.

L'exposition professionnelle aux ammoniums quaternaires

Immunsation aux ammoniums quaternaires et allergies professionnelles

Saadia Kerdine-Römer, Faculté de pharmacie, Université Paris-Saclay et Inserm UMR 996

Les partenaires : **Luc de Chaisemartin**, Université Paris-Saclay, Inserm UMR 996 - **Nicole Le Moual**, Inserm U1168, Villejuif – **Delphine Joseph**, Université Paris-Saclay, UMR CNRS BioCIS, Châtenay-Malabry – **Fanny Rancière**, Université Paris Descartes, Faculté de pharmacie, EA4064, Épidémiologie environnementale : impact sanitaire des pollutions - **Pascale Nicaise** et **Sylvie Chollet-Martin**, AP-HP, Hôpital Bichat, UF Auto-immunité et hypersensibilité

Projet de recherche en cours (depuis janv. 2019) – Financement : 199.998 € - Contact : saadia.kerdine-romer@universite-paris-saclay.fr

Mots-clés : exposition professionnelle, composé chimique, ammonium quaternaire, produit de nettoyage, cosmétique, désinfectant, détergent, shampoing, biocide, cation, tensioactif, effet bactériostatique, immunsation, facteur de risque, allergène, allergie, asthme, rhinite, coiffure, cohorte, épidémiologie, protéine, albumine, kératine, réaction croisée

Les ammoniums quaternaires (AQ) sont des substances aux propriétés tensio-actives et bactériostatiques largement utilisées au quotidien, dans des produits de nettoyage (ex. détergents), des désinfectants et de nombreux produits cosmétiques (ex. shampoings, lotions, dentifrices).

L'exposition professionnelle

L'exposition professionnelle aux AQ est à l'origine de pathologies respiratoires et dermatologiques, notamment l'asthme et la dermatite de contact. C'est aussi la première cause émergente de rhinite allergique professionnelle depuis les années 2000. De plus, l'exposition répétée aux AQ utilisés en coiffure a été décrite comme facteur de risque

dans les cas d'anaphylaxie aux curares (agents myorelaxants injectés par ex. lors d'anesthésies générales). Il a été montré que la structure reconnue par les anticorps de ces patients était précisément le groupement AQ.

L'exposition aux AQ est donc fortement soupçonnée d'être liée au développement de pathologies allergiques. Cependant, la prévalence de l'immunsation parmi les professionnels n'est pas connue et les mécanismes d'immunsation contre ces produits restent peu étudiés. Il n'existe pas de marqueurs d'exposition reconnus et l'effet cumulé des différents AQ entre eux (ou associés à d'autres allergènes) n'a pas été évalué. À ce jour, aucune recommandation ne limite l'exposition aux AQ et rien ne permet de classer les AQ selon leur toxicité. Enfin, le lien entre exposition aux AQ et anaphylaxie médicamenteuse n'a pas été formellement établi.



Illustration 16 : Exposition professionnelle aux ammoniums quaternaires (Source : iStockphoto)

Le projet de recherche : IMMQUAP

L'hypothèse de cette étude est qu'il est possible de se sensibiliser aux molécules d'AQ présentes dans les produits d'usage courant et de développer par la suite des pathologies allergiques.

En combinant des disciplines complémentaires, cette étude permettra d'identifier les molécules les plus à risque et d'élucider leur mécanisme d'immunsation. Elle comportera un volet épidémiologique,

permettant d'établir le lien entre immunisation contre les AQ et exposition à ces molécules, ainsi qu'un volet moléculaire permettant d'identifier les molécules les plus à risque de provoquer une immunisation.

Méthodologie

La mesure des immunoglobulines E (IgE) et immunoglobulines G (IgG) anti-AQ sera effectuée dans **deux cohortes** :

- Une cohorte prospective longitudinale d'apprentis-coiffeurs au cours de leur formation, mise en place pour ce projet. Un questionnaire sur l'exposition aux AQ et un prélèvement sanguin seront réalisés au Centre d'Investigation Clinique de l'hôpital Bichat à Paris chez les élèves volontaires de différents CFA¹⁰⁸ de coiffure. Cette cohorte permettra d'étudier l'évolution de l'immunisation aux AQ durant la formation des apprentis.
- EGEA2¹⁰⁹ : cohorte établie de personnels hospitaliers exposés aux produits de nettoyage et de désinfection.

La cohorte PARIS¹¹⁰ sera intégrée comme étude témoin de population générale de même âge sans exposition professionnelle. Les tests allergologiques réalisés permettront de comparer la prévalence d'immunisation entre les différentes cohortes et de proposer des marqueurs de suivi des expositions professionnelles.

¹⁰⁸ Centre de formation en apprentissage.

¹⁰⁹ Étude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme, l'hyperréactivité bronchique et l'atopie : <https://egeanet.vjf.inserm.fr/index.php/fr/>

¹¹⁰ Étude des environnements intérieur et extérieur des enfants : Isabelle Momas. L'exposition aux particules ultrafines chez l'enfant d'âge scolaire : Impact de l'exposition aux particules ultrafines sur la fonction ventilatoire et les symptômes respiratoires chez l'enfant d'âge scolaire : étude dans les cohortes PARIS et INMA. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail*, ANSES, 2016, Santé et pollution atmosphérique, pp.18-19. ([anses-01716268](https://doi.org/10.18128/anses-01716268))

Les **études fonctionnelles** s'intéresseront au potentiel sensibilisant des différentes molécules AQ. Premièrement, la capacité des AQ à stimuler le système immunitaire sera étudiée via l'étude de l'activation des cellules dendritiques, à partir du modèle de cellules dendritiques issues de monocytes sanguins (MoDC), ainsi que de la lignée de cellules THP-1.

Ensuite, la capacité de ces AQ à se fixer sur des protéines permettant la formation de structure immunogène sera étudiée. Pour cela, les AQ seront incubés avec des protéines purifiées (ex. albumine, kératine) et des épidermes reconstruits (modèle 3D). L'étude et la caractérisation de la fixation des AQ aux protéines seront définies par spectrométrie de masse¹¹¹.

Résultats préliminaires

Les premiers résultats des études fonctionnelles *in vitro* montrent une importante différence de capacité d'activation cellulaire selon les molécules d'AQ dans les deux modèles cellulaires utilisés. La caractérisation moléculaire des mécanismes d'activation est en cours.

Autres retombées

L'étude de l'exposition professionnelle est un bon modèle pour comprendre l'impact des produits AQ sur le système immunitaire et notamment le développement de manifestations telles que l'asthme ou éventuellement l'anaphylaxie. La mise en évidence d'un lien permettra de reconsidérer le caractère inoffensif de ces produits et de développer des recommandations de protection pour les plus sensibilisants d'entre eux.

¹¹¹ Technique Q-TOF : spectrométrie de masse à temps de vol.

Les insecticides biologiques Bt

Bioinsecticides Bt, Environnement et Santé

Armel GALLET, Institut Sophia Agrobiotech
UMR Inrae 1355/CNRS 7254/Univ. Côte
d'Azur, Sophia Antipolis

Projet de recherche (en cours depuis 2018 – durée :
36 mois) – Financement Écophyto : 123.829 € -
Contact : gallet@unice.fr

Mots-clés : pesticide, agriculture biologique, épandage, bactérie, biopesticide, insecticide, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, sylviculture, toxi-infection alimentaire, environnement, santé publique, toxine, organisme génétiquement modifié, chenille, pin, chêne, lépidoptère, ravageur, lutte contre moustique, *Aedes albopictus*, *Culex*, toxicité, toxicologie, intestin, exposition professionnelle, jardinier

Les pratiques agricoles évoluent et tentent de réduire, conformément au plan Écophyto¹¹², l'utilisation de pesticides chimiques d'ici 2025. De ce fait, les pesticides biologiques ou biopesticides¹¹³ sont de plus en plus utilisés pour lutter contre les nuisibles et les plantes adventices. Parmi ceux-ci figurent les bioinsecticides Bt.

Les bioinsecticides Bt

L'acronyme Bt désigne une bactérie entomopathogène : *Bacillus thuringiensis*. Employée dans les forêts dès les années 1920, elle agit en ciblant les cellules de l'épithélium du tube intestinal des insectes dits « défoliateurs »¹¹⁴. En créant des brèches, les toxines libérées permettent aux bactéries de traverser la barrière intestinale et de pénétrer à l'intérieur de l'organisme, provoquant une septicémie. Après son ingestion, Bt tue l'insecte ciblé en deux ou trois jours. Ses

propriétés (comme sa spécificité d'action¹¹⁵) ont favorisé son développement dans l'agriculture biologique¹¹⁶ ou son utilisation dans des plantes transgéniques (OGM). Comment expliquer son spectre d'activité restreint ?

Des cocktails de toxines Cry

Au cours de la formation des spores¹¹⁷, Bt produit des cristaux contenant des toxines Cry (ou protéines). Ces toxines sont responsables de l'activité insecticide de Bt, limitée par exemple à certains stades comme le stade larvaire. Il en existe des centaines de types, mais moins de vingt sont actuellement commercialisés en France, soit dans des bioinsecticides¹¹⁸ contenant des combinaisons de toxines Cry, soit dans des plantes OGM¹¹⁹ produisant directement une ou plusieurs toxines Cry.

Les deux souches de Bt principalement utilisées en France comme bioinsecticide sont *Bt kurstaki* (Btk) et *Bt israelensis* (Bti) qui produisent des cocktails de cinq à six toxines Cry différentes et sont vendues sous diverses appellations :

- Btk, le bioinsecticide le plus vendu, est utilisé dans le secteur forestier pour lutter contre les chenilles processionnaires du pin et du chêne¹²⁰ et surtout en agriculture biologique¹²¹ pour lutter contre plusieurs

¹¹² Le plan Écophyto 2 prévoit de réduire les usages de pesticides chimiques de 50% d'ici 2025 (en réponse à la directive 2009/128/CE).

¹¹³ Basés sur des microorganismes ou des produits naturels

¹¹⁴ Ou « défeuillants », ex. lépidoptères.

¹¹⁵ Mortellement toxique pour certains insectes mais sans effet létal sur d'autres.

¹¹⁶ Pour remplacer les pesticides chimiques.

¹¹⁷ Cellules spécialisées qui permettent à la bactérie de survivre dans environnements défavorables.

¹¹⁸ Site : <https://ephy.anses.fr>

¹¹⁹ Site : www.isaaa.org – Les plantes OGM ne sont ni commercialisées ni cultivées en France. Par contre, elles peuvent être présentes dans la nourriture humaine ou animale en cas d'importation de matières premières issues de pays autorisés à cultiver les OGM Bt.

¹²⁰ 40.000 ha de forêts du midi de la France sont traités chaque année.

¹²¹ Environ 2.000.000 ha de cultures certifiées « bio » en France en 2018 contre à peine 350.000 ha en 2000 (site : <http://stats.oecd.org>).

espèces de lépidoptères ravageurs de cultures ;

- Bti est utilisé en lutte anti-vectorielle dans le midi de la France, la Guyane, les Antilles et la Réunion pour lutter contre le moustique tigre *Aedes albopictus* (vecteur de la dengue et du chikungunya) et contre les moustiques du genre *Culex* pour le bien-être de la population.

Les toxines Cry produites dans les cristaux par Btk ont une toxicité aiguë restreinte (ciblée) limitant les dommages collatéraux sur les espèces non cibles ; elles respectent ainsi les autres espèces de l'écosystème, dont l'homme. Alors que de nombreuses études ont démontré leur innocuité pour les organismes non cibles¹²² sur une courte période, les effets indésirables potentiels d'une exposition sur plusieurs décennies (toxicité chronique) sont très peu connus¹²³.

Bien qu'il soit admis que les cristaux de toxines se dissolvent uniquement dans l'intestin des organismes cibles, notre équipe a observé des effets indésirables imputés à la présence des toxines Cry de Btk sur des organismes non cibles comme l'abeille, le trichogramme et de nombreuses espèces de drosophiles. De plus, aux abords de champs de maïs Bt, la toxine Cry1Ab se retrouve dans l'environnement, principalement les eaux de ruissellement ; elle semble associée à une mortalité anormalement élevée et un retard de croissance d'espèces de trichoptères à vie larvaire aquatique.

De même, *Bacillus thuringiensis* est maintenant reconnue comme une bactérie opportuniste pour l'homme : impliquée dans des cas de toxi-infections alimentaires. Mais, les tests permettant de distinguer Bt des autres

bactéries du groupe *Bacillus* ne sont pas toujours effectués, ce qui pourrait sous-estimer l'implication de Bt.

Tous ces exemples suggèrent qu'une utilisation accrue des bioinsecticides Btk pourrait avoir, sur le long terme, des conséquences sur la faune (l'environnement) et la santé publique¹²⁴ (pathologies du tube digestif), malgré des doses relativement faibles retrouvées dans le biotope.



Illustration 17 : *Drosophila melanogaster* ou mouche du vinaigre (Auteur : André Karwath)

Le projet de recherche : BiBES

Il est donc nécessaire d'analyser les risques environnementaux et sanitaires liés à l'ingestion chronique de Btk. À partir du modèle *Drosophila melanogaster* (mouche du vinaigre), nous proposons d'analyser :

1. La physiologie intestinale et les conséquences métaboliques systémiques ;
2. L'homéostasie cellulaire intestinale d'individus génétiquement prédisposés à développer des pathologies intestinales.

À terme, nos travaux déboucheront sur une évaluation objective des risques, permettant ainsi l'élaboration de mesures de protection environnementale et sanitaire.

¹²² Principalement sur les mammifères.

¹²³ Avis de l'Anses relatif aux risques en termes de sécurité sanitaire liés à l'utilisation de souches de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en tant que substances actives dans les insecticides biologiques, 22 juillet 2013 (saisine No 2013-SA-0039).

¹²⁴ Les professionnels (en agriculture et sylviculture) et les jardiniers amateurs manipulant ces produits, ainsi que toutes les espèces vivant dans les zones d'épandage (terrestre et aérien), sont potentiellement soumis à un contact répété à Btk.

Méthodologie

Deux sources de bioinsecticides Btk sont utilisées à des fins comparatives : les formulations commerciales¹²⁵ achetées dans les coopératives agricoles et les préparations dites « maison » produites au laboratoire.

Toutes les expériences sont faites avec les différents produits Btk en intoxications aiguë (ponctuelle) et chronique. Et les doses utilisées sont celles préconisées par les fabricants.

Dans un premier temps, nous testons les capacités digestives et d'absorption des nutriments de l'intestin. Puis, nous associerons les perturbations métaboliques observées avec un suivi de prise ou perte de poids des adultes, ainsi qu'avec leur longévité. Enfin, nous nous appuierons sur les circuits génétiques impliqués au cours des dérégulations intestinales et métaboliques chez la drosophile pour sélectionner des gènes marqueurs conservés dans le règne animal.

Résultats

Nous avons montré que l'ingestion chronique des produits commerciaux *Bt* utilisant l'une ou l'autre des souches commerciales de *Btk* (ABTS-351 ou SA11) induisait un retard de développement et un défaut de croissance chez la larve. Ces défauts sont dû à une mort accrue des entérocytes, provoquant une réduction des capacités digestives et absorbatives de l'intestin. Ces impacts sont tempérés par l'apport d'une nourriture riche en protéine ou par la complémentation de l'alimentation par la bactérie probiotique *Lactobacillus plantarum*.

Chez la mouche adulte, l'ingestion chronique des produits commerciaux *Btk* augmente fortement la mortalité (20 à 30%). Les intestins montrent une désorganisation des noyaux, un changement de formes des entérocytes, de fortes contractions des muscles viscéraux et une perte des jonctions cellulaires, signes d'un

vieillesse prématuré. Par ailleurs, des mouches sensibilisées, présentant une inflammation chronique de l'intestin, exhibent une espérance de vie encore plus réduite que les mouches contrôles intoxiquées (~20%), ce qui indique que des mutations pro-inflammatoires sensibilisent les mouches à l'ingestion des produits *Bt* et entraînent une mortalité précoce.

Publications :

Nawrot-Esposito MP., Babin B., Pasco M., Poirié M., Gatti JL. and Gallet A.: "*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* bioinsecticide induces growth defects and developmental delay of the non-target organism *Drosophila melanogaster* by disturbing homeostasis of the larval intestine" *bioRxiv*. (2020).

<https://doi.org/10.1101/2020.04.30.071563>



Illustration 18 : Plan Écophyto II+

¹²⁵ Dipel® et Delphin®.

L'impact d'une exposition alimentaire à un mélange de pesticides

Impact d'une exposition périnatale à un mélange de faibles doses de pesticides sur l'homéostasie métabolique, le microbiote intestinal et les fonctions neurovasculaires de la descendance

Laurence GAMET-PAYRASTRE, Toxalim, Toulouse

Les partenaires : **N. Marchi**, Cerebrovascular mechanisms of brain disorders, Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF), Montpellier

Projet de recherche en cours depuis 2018 - Financement OFB/Écophyto : 186.120 € – Contact : laurence.payrastre@inrae.fr

Mots-clés : exposition maternelle, exposition précoce, alimentation, pomme, pesticide, produit phytosanitaire, perturbateur endocrinien, dose faible, homéostasie, maladie métabolique, obésité, diabète, dyslipidémie, insulino-résistance, pathologie du foie, intestin, stéatose hépatique, microorganisme, système nerveux central, neurone, neuropeptide, protéine, hormones mélanotropes, interaction, toxicologie, modèle animal, souris

Les maladies et troubles métaboliques, qui incluent l'obésité, l'hypertension, l'insulino-résistance et la dyslipidémie, sont associées à un risque élevé de pathologies cardiaques et de diabète de type 2. Ces perturbations, en augmentation constante dans le monde, sont d'origine multifactorielle. À la composante génétique s'ajoute l'influence réelle du mode de vie (ex. sédentarité, absence d'activité physique, alimentation calorique élevée). Mais aujourd'hui, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent aussi un lien entre :

- L'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens (PE) et l'obésité, le syndrome métabolique et le diabète de type 2 ;

- L'exposition aux pesticides¹²⁶ et l'augmentation de l'obésité, du diabète et du risque de dyslipidémie.

Par ailleurs, ces désordres métaboliques s'accompagnent souvent d'atteintes hépatiques : de la stéatose bénigne (NAFL) à des pathologies plus sévères telles que la stéatohépatite (NASH), la cirrhose du foie et l'hépatocarcinome¹²⁷.

Le microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est l'ensemble des microorganismes¹²⁸ qui se trouvent dans le tube digestif d'un homme ou d'un animal. Il joue un rôle prépondérant dans de nombreuses fonctions physiologiques telles que la protection contre les agents infectieux (pathogènes), la modulation du système immunitaire, la fermentation de fibres alimentaires non digestibles, le métabolisme des xénobiotiques¹²⁹, etc.

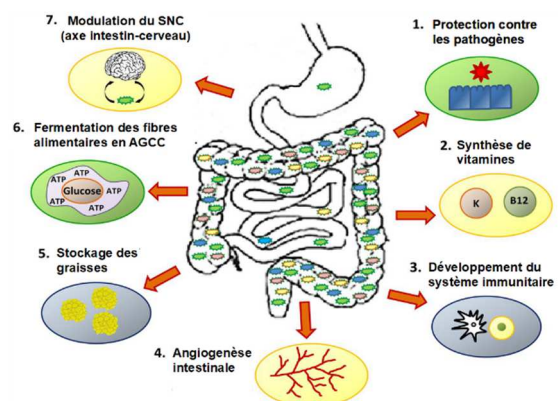


Illustration 19 : Rôles du microbiote intestinal (Source : Protima Amon & Ian Sanderson)

Des déséquilibres de ce microbiote (aussi appelés dysbioses) sont associés à des maladies métaboliques et inflammatoires telles que l'obésité, le diabète, la maladie de Crohn, le

¹²⁶ Persistants (comme les organochlorés) et non persistants (autres familles chimiques de pesticides).

¹²⁷ Qui peut représenter 90% des cancers du foie dans certains pays.

¹²⁸ Écosystème dynamique formé par un ensemble de 400-1000 espèces bactériennes.

¹²⁹ Molécule présente dans un organisme vivant mais qui lui est étrangère, ex. médicaments, pesticides...

cancer colorectal, les maladies hépatiques, l'allergie... Or, la façon dont le microbiote intestinal et les polluants interagissent n'est pas encore très claire. En toxicologie, ces interactions sont un sujet émergent.

Pour de nombreux xénobiotiques, le métabolisme bactérien intestinal est un facteur modulant la toxicité vis-à-vis de l'hôte. Par exemple, la transplantation de fèces préalablement cultivées en présence de pesticides organophosphorés¹³⁰ chez des souris saines a entraîné l'apparition d'une intolérance au glucose chez les souris receveuses. Si ce mécanisme semble être commun à la plupart des organophosphorés, les études sur ce sujet restent encore peu nombreuses.

Des données de la littérature¹³¹ font, par ailleurs, le lien entre le syndrome métabolique et l'altération des performances cognitives. Maladies métaboliques, microbiote intestinal et structure cérébrale constituent un tryptique d'intérêt peu étudié.

Le système nerveux central

Des hypothèses récentes suggèrent que les effets obésogènes attribués aux pesticides et perturbateurs endocriniens pourraient dériver d'un effet sur le système nerveux central. En effet, les signaux périphériques (en provenance notamment du foie, des muscles, du tissu adipeux...) convergent tous vers le système nerveux central par voie sanguine et/ou nerveuse et l'informent sur le statut énergétique de l'organisme.

Deux populations neuronales jouent un rôle clé dans la régulation de la balance énergétique :

- Les neurones à neuropeptides¹³² AgRP/NPY, qui sont deux puissants stimulants de la prise alimentaire ;

¹³⁰ Ex. monocrotophos, chlorpyrifos, malathion ou méthyl parathion.

¹³¹ Données à la fois épidémiologiques et expérimentales.

¹³² Les neuropeptides sont de petites molécules semblables à des protéines utilisées par les neurones

- Les neurones à pro-opiomélanocortine¹³³ (POMC) qui sécrètent de nombreuses hormones comme la mélanotropine¹³⁴ (alpha-MSH) et des neuropeptides comme la CART¹³⁵ qui sont des agents anorexigènes¹³⁶.

Ces neurones constituent un relais entre la périphérie et le système nerveux central.

Le projet de recherche : EPIdeMICMAC

L'objectif de ce projet de recherche est d'évaluer l'impact d'une exposition alimentaire à un mélange de faibles doses de pesticides, lors de périodes de vulnérabilité périnatale, sur l'équilibre métabolique (homéostasie), la composition du microbiote intestinal et le système nerveux central.

À partir d'un modèle animal (souris) mimant l'exposition des consommateurs, un cocktail de six pesticides¹³⁷ utilisés dans le traitement des pommeraies en Occitanie sera testé par voie alimentaire.

Méthodologie

Les pesticides en mélange sont incorporés dans l'alimentation à des doses réalistes¹³⁸. Les différentes évaluations (ex. poids corporel, prise alimentaire et hydrique, intolérance au glucose et à l'insuline) sont effectuées à trois étapes importantes :

- Le sevrage (trois semaines) ;
- L'âge adulte (huit semaines) ;

pour communiquer entre eux : AgRP désigne la protéine apparentée à Agouti et NPY les neurones à neuropeptide Y.

¹³³ Une mutation du gène POMC peut entraîner notamment une obésité précoce.

¹³⁴ Entraîne la synthèse de la mélanine, principalement en réponse aux rayons UVA.

¹³⁵ Neuropeptide libéré lors de la transcription régulée par la cocaïne et l'amphétamine.

¹³⁶ Qui semblent jouer un rôle de psychostimulant

¹³⁷ Captan, boscalide, chlorpyrifos, thiaclopride, thiophanate et ziram.

¹³⁸ Correspondant à la dose journalière admissible (DJA) pour chaque pesticide.

- Et à un stade plus âgé (plus de vingt-quatre semaines).

Résultats

L'exposition périnatale aux pesticides n'a pas affecté le poids corporel ni l'homéostasie énergétique chez les souris âgées de 6 et 14 semaines. Par contre les animaux présentent dès le sevrage (âgés de 21 jours) des biomarqueurs pro inflammatoires au niveau hypothalamique.

Les animaux nourris avec un aliment riche en graisse et en sucre (HFD) ont un poids corporel augmenté et présentent des troubles métaboliques comparativement aux animaux nourris avec un régime standard. Cependant, les perturbations métaboliques induites par le régime HFD sont similaires entre les souris exposées aux pesticides ou non pendant les périodes périnatales.

Par contre, l'exposition maternelle aux pesticides a induit chez les souris adultes (nourries avec un régime contrôle) des altérations spécifiques en fonction du sexe et de l'âge du métabolome urinaire et fécal, suggérant des changements durables dans le microbiote intestinal. De plus l'exposition maternelle à ce cocktail de pesticides, a induit des modifications neurophysiologiques significatives.

Cocktail de pesticides et stéatose hépatique

Effets d'une exposition chronique à faible dose d'un cocktail de pesticides sur l'accumulation hépatocytaire de lipides et le métabolisme des xénobiotiques

Bernard FROMENTY, Inserm U1241, Institut NuMeCan, Université de Rennes 1

Les partenaires : **Pascal Loyer**, Institut NuMeCan / **Nicole Baran**, BRGM

Projet de recherche expérimentale en cours depuis le 27 mai 2019 – Financement Écophyto: 199.943 €
– Contact : bernard.fromenty@inserm.fr

Mots-clés : foie, pesticide, xénobiotique, toxicité, exposition chronique, faible dose, métabolisme, cytochrome P450, biotransformation, interaction, lipide, triglycéride, stéatose hépatique, stéatohépatite non alcoolique, chlorpyrifos, diméthoate, diazinon, manèbe, mancozèbe

Exprimés principalement dans le foie, les cytochromes P450 (CYPs) sont des protéines qui participent à la transformation biologique de nombreuses substances dites « xénobiotiques »¹³⁹ (ex. polluants, pesticides, médicaments) et contribuent ainsi à la détoxification de l'organisme vivant. Il est à noter que cette biotransformation peut générer des molécules inoffensives mais également des molécules très toxiques pour les hépatocytes, les principales cellules du foie.

L'activité de certains CYPs peut être altérée dans certaines maladies hépatiques, et en particulier au cours de la stéatose¹⁴⁰ liée à l'obésité (encore appelée NAFLD, pour « *nonalcoholic fatty liver disease* »). Cette lésion est bénigne à court terme mais elle peut évoluer à long terme vers des maladies

¹³⁹ Molécules étrangères à l'organisme vivant, non produites par l'organisme lui-même.

¹⁴⁰ Cette maladie hépatique correspond à une accumulation de lipides, principalement sous forme de triglycérides.

hépatiques parfois sévères, notamment la stéatohépatite, la cirrhose et le cancer.

Des xénobiotiques comme l'alcool éthylique et certains médicaments sont connus pour modifier l'activité des CYPs, entraîner une stéatose hépatique sur un foie sain (i.e. non-stéatosée), ou majorer une NAFLD déjà existante chez un sujet obèse. Ces différents effets peuvent être induits par des mécanismes indépendants, parfois complexes.



Illustration 20 : Effets hépatiques des pesticides les plus rencontrés dans l'alimentation (Source : iStockphoto)

Effets hépatiques des pesticides

Dans le cadre d'un projet collaboratif précédent¹⁴¹, nous avons mis en évidence qu'un « cocktail » de sept pesticides, parmi les plus rencontrés dans l'alimentation européenne¹⁴², pouvait favoriser une progression tumorale de cellules souches mésenchymateuses (CSM).

Même si certains de ces pesticides sont métabolisés au niveau du foie par les CYPs, les effets de ces molécules sur l'activité des CYPs et le métabolisme des lipides sont largement inconnus à ce jour. Il est donc important de connaître les effets hépatiques de ces pesticides, seuls ou en mélange, notamment du fait de la prévalence de l'obésité et de la

NAFLD dans la population générale. Dans ce contexte, deux questions importantes se posent :

- Quel est l'impact des pesticides à faibles doses, seuls ou en mélange, sur l'apparition d'une stéatose ou l'aggravation d'une NAFLD ?
- Quel est l'impact de ces pesticides sur l'activité des CYPs et la biotransformation des substances actives du « cocktail » ?

Le projet de recherche : PESTIFAT

Le projet PESTIFAT, qui implique des équipes ayant des expertises complémentaires¹⁴³, permettra notamment de connaître l'impact d'une exposition chronique aux pesticides seuls ou en mélange¹⁴⁴ sur les activités des principaux CYPs et sur l'accumulation de triglycérides, ou l'aggravation d'une NAFLD préexistante. Les investigations sont réalisées sur des cellules hépatiques humaines¹⁴⁵ qui possèdent la plupart des CYPs et qui peuvent accumuler des lipides par différents mécanismes.

Méthodologie

1. Des cellules HepaRG, stéatosées¹⁴⁶ ou non, sont exposées pendant 14 jours à de faibles doses de pesticides, seuls ou en mélange, afin d'établir leurs effets sur le contenu en triglycérides, les concentrations d'ATP¹⁴⁷, la formation des espèces réactives de l'oxygène, l'expression de marqueurs d'inflammation et la respiration mitochondriale. Ainsi, seront évalués l'apparition ou l'aggration

¹⁴³ Évaluation de la toxicité, mécanismes de la NAFLD, étude du métabolisme et mesure analytique des substances actives dans différentes matrices biologique et environnementale.

¹⁴⁴ Même cocktail que pour le projet PeNiCa

¹⁴⁵ Modèle hépatocellulaire : lignée HepaRG (cellules d'un hépatome humain).

¹⁴⁶ Par exposition à un mélange d'acides gras.

¹⁴⁷ Adénosine triphosphate : nucléotide constitué de trois molécules d'acide phosphorique, riche en énergie.

¹⁴¹ Projet PeNiCa financé par le Canceropôle Grand Ouest (Coordinateur, Prof Olivier Héroult, CNRS ERL 7001, Tours).

¹⁴² Selon l'EFSA : Chlorpyrifos-Ethyl, Diméthoate, Diazinon, Iprodione, Imazalil, Manèbe et Mancozèbe (Journal, 2010).

d'une stéatose et éventuellement les mécanismes associés.

2. La biotransformation des différents pesticides sera étudiée sur les cellules stéatosées ou non, après des expositions uniques ou répétées afin de savoir :
 - a. Si une exposition chronique influence la biotransformation de ces pesticides ;
 - b. S'il existe des interactions entre les différents pesticides ;
 - c. Si la NAFLD perturbe la biotransformation de certains pesticides.

Résultats préliminaires

Différentes expériences de mise au point du modèle expérimental ont été d'abord réalisées afin de sélectionner les concentrations permettant l'étude d'une exposition chronique des pesticides. Les résultats préliminaires ensuite obtenus suggèrent que le cocktail est capable d'induire une stéatose sur les cellules HepaRG et de plus qu'il majore la stéatose sur des cellules incubées en présence d'acides gras (modèle « NAFLD »). Une cytotoxicité du cocktail, évaluée grâce à la mesure de l'ATP, est également observée et celle-ci semble majorée dans le modèle « NAFLD ».

Les microARN circulants comme bioindicateurs d'exposition aux HAP seuls et en mélange

Utilisation des MiARN circulants comme indicateurs d'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques seuls et en mélange

Lydie SPARFEL, Irset-Inserm UMR S 1085, Université de Rennes 1, Rennes

Les partenaires : Pr **Anne Maître**, UMR 5525 TIMC-IMAG, CNRS, Grenoble INP, CHU Grenoble Alpes, Université Grenoble Alpes

Projet de recherche en cours (depuis 2020) –
Financement : 200 K€ – Contact :
lydie.sparfel@univ-rennes1.fr

Mots-clés : hydrocarbure aromatique polycyclique, microARN, biomarqueurs, exposition, polluant, toxicité, cellules sanguines, fluides biologiques, *in vitro*, *in vivo*, urine, expérimentation animale, mélanges, évaluation risque

Par son environnement, à la fois professionnel et domestique, l'homme est exposé aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), contaminants majeurs de notre environnement. Cette famille de composés organiques, qui a pour chef de file, le benzo[*a*]pyrène, possède la particularité d'être présente dans l'environnement sous forme de mélanges, plus ou moins complexes et variant selon les lieux et les sources d'émission. Il apparaît alors difficile d'évaluer clairement l'exposition humaine à ces mélanges.

La toxicité des mélanges

L'évaluation des risques sanitaires liés à l'exposition aux mélanges d'HAP reste également mal maîtrisée :

- D'une part, parce que la composition de ces mélanges reste souvent méconnue ;
- D'autre part, parce que les données disponibles sur les effets induits par ces mélanges sont relativement peu

documentées, par comparaison avec les HAP individuels.

À l’instar des dioxines, cette évaluation s’appuie sur un équivalent toxique qui est égal à la somme de la concentration de chaque HAP du mélange, multipliée par son facteur d’équivalence toxique (TEF)¹⁴⁸. Les effets de chacun des HAP du mélange sont ainsi considérés comme additifs, sans interaction entre eux. Or, « de nombreuses incertitudes persistent du fait d’éventuelles interactions pouvant conduire à des effets synergiques ou antagonistes entre les différents HAP présents dans un mélange »¹⁴⁹.

L’expression des microARN (miARN)

À l’heure actuelle, différents biomarqueurs sont proposés pour évaluer l’exposition humaine aux HAP comme la mesure des métabolites urinaires (ex. 1-hydroxypyrene) souvent faiblement corrélés au développement d’effets toxiques, ou encore la quantification d’adduits à l’ADN, en relation avec la survenue d’effets mais qui reste encore du domaine de la recherche.

Ces dernières années, l’étude de l’expression des microARN (miARN) circulants s’est révélée pertinente pour identifier avec exactitude, une maladie telle que le cancer. Cette approche pourrait s’avérer intéressante pour définir des biomarqueurs sensibles et spécifiques de l’exposition et des risques associés aux HAP seuls et en mélange. En effet, les miARN sont de petits acides

ribonucléiques (ARN), simple brin, non codants et présents dans la grande majorité des organismes vivants. Ils jouent un rôle majeur dans la régulation post-transcriptionnelle¹⁵⁰ de nombreux gènes, soit en inhibant la traduction de l’ARN messager (ARNm), soit en entraînant sa dégradation. Ils interviennent ainsi dans de nombreux processus biologiques, allant du développement à la formation de tumeurs.

Des efforts sont aujourd’hui en cours pour exploiter leur potentiel¹⁵¹ comme indicateurs d’exposition. Peu nombreux, remarquablement stables et présents dans les fluides corporels (notamment, au sein des vésicules extracellulaires), ils représentent d’excellents biomarqueurs potentiels pour l’exposition à des contaminants, affichant aujourd’hui un rôle émergent en toxicologie environnementale.

Le projet de recherche : miR-Ex-HAP

Dans la continuité de nos travaux précédents¹⁵², nous souhaitons étudier l’impact des HAP sur le contrôle de l’expression des gènes par des mécanismes épigénétiques¹⁵³ impliquant des miARN. S’il est bien établi que des HAP, tels que le B[a]P, sont capables de produire des effets génétiques en interagissant avec l’ADN des cellules mononucléées du sang périphérique¹⁵⁴ (PBMC), leur capacité à modifier les miARN produits par ces mêmes cellules reste aujourd’hui peu documentée.

Récemment, un nouveau concept suggérant des fonctions importantes des miARN

¹⁴⁸ Utilisé pour calculer la toxicité de divers produits, ce facteur de pondération est théorique. Il est déterminé en comparant la toxicité spécifique de chaque HAP au potentiel toxique du benzo[a]pyrène, dont le TEF est pris pour unité.

¹⁴⁹ Lydie Sparfel. Effets immunotoxiques des hydrocarbures aromatiques polycycliques : Étude des effets génotoxiques et immunotoxiques des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les lymphocytes humains : identification de biomarqueurs géniques d’exposition à ces contaminants. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail*, ANSES, 2018, Cancer et environnement, pp.29-31. ([anses-01926984](https://doi.org/10.1926984))

¹⁵⁰ Cette phase de la régulation de l’expression des gènes comprend tous les mécanismes, qui affectent directement les molécules d’ARN produites lors de la transcription. Elle permet ainsi aux cellules de s’adapter rapidement aux changements de leur environnement.

¹⁵¹ Outils diagnostiques ou thérapeutiques.

¹⁵² Projet ToxLyMix, APR N° EST 2014/1/052.

¹⁵³ Mécanismes réversibles, adaptatifs, qui n’impliquent pas le génome : au-dessus (du grec anc. *épi*) de la génétique.

¹⁵⁴ Les PBMC provenant de l’EFS (Rennes) ont l’avantage d’être accessibles chez l’homme par simple ponction sanguine, puis facilement mises en culture pour réaliser une exposition *in vitro* aux HAP.

extracellulaires, détectables dans la majorité des fluides biologiques et transportés au sein des vésicules extracellulaires (VE) a émergé. C'est pourquoi, grâce à des travaux préliminaires, nous émettons l'hypothèse que les HAP sont capables de modifier sélectivement la biogenèse des VE issues des PBMC et/ou d'altérer les profils d'expression des miARN contenus dans ces VE.

Méthodologie

Le projet miR-Ex-HAP combine deux types d'approches :

1. Une approche *in vitro*, qui consiste à caractériser les profils des miARN des vésicules extracellulaires issues des PBMC après exposition aux HAP ;
2. Une approche *in vivo*, qui vise à valider ces signatures dans les fluides biologiques de rongeurs et de travailleurs exposés à ces mêmes HAP.

Pour notre étude, nous proposons de retenir comme HAP, le B[a]P chef de file de cette famille, le pyrène présent dans les mélanges d'HAP industriels, un mélange réel directement prélevé sur site industriel et un mélange synthétique reconstitué à l'identique du mélange réel pour les HAP particuliers.

L'originalité de notre méthode repose sur l'utilisation :

- D'une dose réaliste, représentative des expositions humaines pour les HAP choisis ;
- D'un mélange réel directement prélevé sur un site contenant des produits dérivant de la houille utilisés dans les électrodes des fours de métallurgie et d'un mélange reconstitué à l'identique ; ces deux mélanges permettant d'évaluer l'effet cocktail des HAP.

Ce projet présente deux objectifs principaux :

1. Apporter des éléments novateurs sur les mécanismes moléculaires et cellulaires de toxicité des mélanges des HAP ;
2. Proposer de nouveaux indicateurs précoces d'exposition/effets à ces polluants, facilement quantifiables et accessibles et, potentiellement applicables en biosurveillance des populations humaines.

L'impact des pesticides de la famille des carbamates sur la maladie de Parkinson

Évaluation de l'impact des pesticides de la famille des carbamates sur l'activité de la protéine Park7, une déglycase protectrice vis-à-vis du développement de la maladie de Parkinson

Julien DAIROU, CNRS UMR 8601, Université de Paris

Les partenaires : **Xavier Coumoul**, Inserm UMR-S 1124, Université de Paris – **Pierre Nioche**, Inserm UMR-S 1124, Plateforme d'Analyses Moléculaires et Structurales, Université de Paris

Projet de recherche en cours depuis nov. 2019 (durée : 40 mois) – Financement : 199.992 € - Contact : julien.dairou@univ-paris-descartes.fr

Mots-clés : pesticide, produit phytosanitaire, exposition professionnelle, agriculture, maladie de Parkinson, carbamate, manèbe, benomyl, lindane, paraquat, toxicologie, neurotoxicité, mécanisme action, homéostasie, glycation, protéine, enzyme, cellule, molécule, cystéine, inhibition, stress oxydant, signalisation

De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre la survenue de la maladie de Parkinson (MP) et le degré d'exposition aux pesticides. Ainsi, depuis 2012 en France, cette maladie neuro-dégénérative a été officiellement reconnue comme une pathologie professionnelle pour les agriculteurs en raison de leur importante exposition aux produits phytosanitaires. Parmi les produits utilisés, le manèbe un fongicide, a été relié, au cours d'études expérimentales, à la maladie de Parkinson. De plus, on a observé des effets beaucoup plus importants lorsqu'il était associé à un autre pesticide, le paraquat¹⁵⁵.

Néanmoins, les mécanismes d'action liés à la neurotoxicité de ces pesticides restent

¹⁵⁵ Un des herbicides les plus utilisés dans le monde mais interdit en Union européenne (de la famille des pyridines).

méconnus, que ce soit au niveau cellulaire ou moléculaire.

La maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une maladie neuro-dégénérative, qui évolue lentement. Elle résulte de la perte progressive des neurones dopaminergiques situés dans la « substance noire » (au centre du cerveau, régulant différentes fonctions motrices), entraînant directement ou indirectement la perturbation de différents messagers chimiques : manque de dopamine¹⁵⁶, augmentation d'acétylcholine¹⁵⁷ et de glutamate¹⁵⁸. Mais, ses causes sont incertaines.

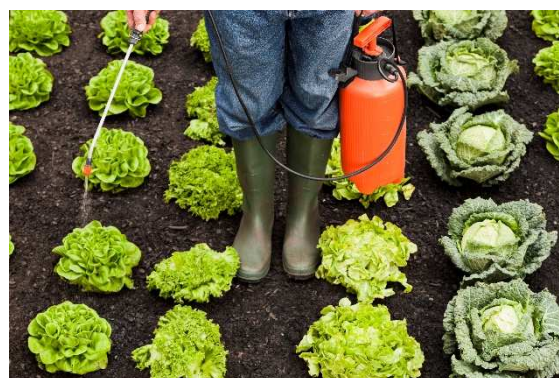


Illustration 21 : L'exposition aux pesticides (Source : iStockphoto)

Le stress oxydatif peut jouer un rôle majeur dans ce phénomène. L'apparition de dommages à l'ADN, la perturbation de certaines voies de signalisation¹⁵⁹ et/ou l'altération du système immunitaire sont autant de mécanismes susceptibles de sous-tendre les effets des pesticides sur la santé des populations exposées. En revanche, aucun travail de recherche n'a porté sur l'étude de la glycation dans un contexte d'exposition aux

¹⁵⁶ Molécule biochimique, qui permet la communication au sein du système nerveux (neurotransmetteur) ; elle influe directement sur le comportement (contrôle du mouvement, sensation de plaisir et de désir).

¹⁵⁷ Neurotransmetteur impliqué dans la mémoire et l'apprentissage.

¹⁵⁸ Un des neurotransmetteurs les plus actifs du cerveau, impliqué dans les sautes d'humeur et la fatigue.

¹⁵⁹ Pouvant conduire à une dérégulation de la prolifération ou de la mort cellulaire.

pesticides. Or, celle-ci peut entraîner les mêmes effets que le stress oxydatif, notamment des troubles de type parkinsonien.

La glycation

Découverte par Louis Camille Maillard en 1912, la glycation est un ensemble de réactions chimiques (formation d'adduits glucidiques sur les protéines et l'ADN), impliqué dans de nombreux mécanismes dont le vieillissement. C'est un phénomène qui progresse tout au long de la vie ; il se produit spontanément, générant des protéines et de l'ADN « glyqués ». Ces produits que l'on appelle des produits terminaux de glycations ne sont pas le plus souvent détruits ou éliminés de la cellule, ils sont ainsi néfastes pour l'organisme et représentent une source importante de dommages à l'ADN. Ils s'accumulent avec l'âge mais peuvent aussi provoquer un vieillissement accéléré, sous l'effet de facteurs externes (ex. « malbouffe », pollution, alcool, tabac, UV).

La glycation se décompose en trois étapes :

- La première dite « précoce » est réversible. Les produits intermédiaires issus de la glycation peuvent être réparés par l'enzyme universelle de réparation, la protéine Park 7 ;
- La seconde et troisième étape sont beaucoup plus graves car les produits terminaux issus de la glycation¹⁶⁰ (PTG) sont susceptibles d'exercer des effets délétères, impliqués dans plusieurs pathologies neuro-dégénératives comme la maladie de Parkinson.

Le projet de recherche : ToxPARK

Nous avons trouvé récemment que la protéine Park 7 peut prévenir la formation de PTG de par sa fonction de réparation, et joue un rôle majeur dans les processus anti-glycation.

Aujourd'hui, nous émettons l'hypothèse qu'un des liens moléculaires, entre exposition aux pesticides et risque de développer la maladie de Parkinson, implique la régulation de la glycation *via* son système de défense porté par la protéine Park 7. Ce qui ouvre de nouvelles perspectives au regard de la fonction de Park 7 que nous avons découverte.

Dans ce contexte, le projet ToxPARK a pour but de caractériser la régulation de l'activité de Park 7 par les pesticides, dont ceux de la famille des carbamates et du paraquat, dans une démarche moléculaire et cellulaire. Aucun travail n'a jusqu'à présent porté sur l'étude de la glycation lors de l'exposition aux pesticides ; ce projet sera donc la première étude évaluant la toxicité des pesticides sur la fonction de réparation de la glycation (activité de Park 7) et sur son impact sur la formation des PTG.

Méthodologie

L'effet des pesticides, les plus inhibiteurs de l'activité de Park 7, sera étudié dans des modèles *in vitro* et *ex vivo*. C'est l'un des aspects originaux du projet, compte tenu de nos découvertes récentes. Ces études permettront de déterminer les effets biologiques de certains pesticides sur la glycation, dont la régulation est très importante notamment dans la maladie de Parkinson.

Le projet s'articulera autour de deux axes principaux :

1. Caractérisation moléculaire de l'effet des pesticides sur l'activité de Park 7 ;
2. Effet de l'exposition des pesticides les plus actifs sur la voie de glycation.

¹⁶⁰ En anglais, « *Advanced glycation end-product* » ou AGEs.

La surveillance de l'eau : vers une méthode de détection innovante

Surfaces nanostructurées pour la détection localisée et l'identification quantitative de polluants et pesticides

Jean-François BARDEAU, Institut des Molécules et Matériaux du Mans, CNRS UMR 6283, Le Mans Université

Les partenaires : **Ludovic Duponchel**, LASIRE CNRS UMR 8516, Université de Lille, Villeneuve d'Ascq

Projet de recherche en cours (depuis sept. 2019) - Financement Écophyto : 49.254 € – Contact : Jean-Francois.Bardeau@univ-lemans.fr

Mots-clés : exposition professionnelle, polluant, pesticide, micropolluant, eau, molécule, surveillance environnement, méthodologie, pollution eau, rejet, sol, milieu aquatique, déchet, perturbateur endocrinien, résidu, qualité eau, analyse eau, dose faible, atrazine, isoproturon, 17-beta-estradiol, estradiol, persistance, spectrométrie Raman, diffusion Raman exaltée de surface, surveillance sanitaire, gestion risque, chimiométrie, analyse multivariée

Depuis plus d'un siècle, le développement industriel, l'agriculture intensive et les nouvelles pratiques domestiques entraînent la présence dans nos déchets, de nouvelles substances susceptibles d'engendrer des risques sanitaires et environnementaux, notamment à travers la pollution des sols et de l'eau.

Les sources de pollution

Bien que des efforts considérables aient été réalisés par les industriels pour réduire de moitié leurs rejets, la pollution industrielle représente encore à elle seule, près de 50% de la pollution globale. À l'échelle mondiale, les pollutions agricoles des sols sont principalement dues à deux facteurs : les produits chimiques (ex. engrais, pesticides) et l'élevage intensif avec les excréments, fumiers et lisiers. Comme les pesticides sont susceptibles de migrer vers d'autres milieux,

lors de leur application, ils font l'objet d'une surveillance régulière dans les cours d'eau. Il est à noter que les jardins privés sont aussi une source importante de la pollution de l'eau, due principalement au non respect par l'utilisateur (jardinier amateur) des dosages indiqués sur les emballages des produits phytosanitaires.

Le rejet constant de polluants dans l'environnement et leur présence dans la chaîne alimentaire constituent une menace à la fois pour l'équilibre de l'environnement et pour la santé humaine. Une prise de conscience récente est en train de changer les comportements individuels. Ainsi, afin de protéger le consommateur, de nombreuses réglementations nationales et européennes ont été mises en place, fixant des Limites Maximales de Résidus (LMR) dans les produits destinés aux alimentations humaine et animale.



Illustration 22 : La surveillance de l'eau (Source : iStockphoto)

La qualité de l'eau

L'ampleur de la pollution de l'eau est particulièrement préoccupante. Elle est aussi complexe à traiter car des micropolluants (ex. additifs pour plastiques, résidus médicamenteux, produits de soins corporels) ne sont pas inclus dans les réglementations ni dans les programmes de surveillance sanitaire. L'analyse de l'eau nécessite donc de développer des technologies innovantes spécifiques et sensibles permettant la détection de substances à faible dose dans un milieu donné.

La spectrométrie Raman

Parmi toutes les méthodes de détection optique, l'identification de molécules par analyses spectrales utilisant la diffusion Raman exaltée de surface (DRES)¹⁶¹ grâce à des supports métalliques nanostructurés est l'une des voies les plus prometteuses.

En effet, cette méthode d'observation et d'analyse est non destructive, sensible et peut détecter la présence de plusieurs composés dans des mélanges même sous forme de trace; elle repose sur le phénomène physique selon lequel un milieu modifie légèrement la fréquence de la lumière y circulant. Ce décalage en fréquence, aussi appelé « effet Raman¹⁶² », donne ainsi des informations spécifiques aux composés analysés.

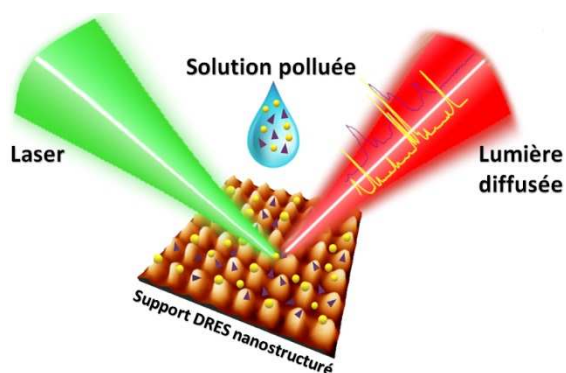


Illustration 23 : Principe de l'analyse de l'eau (Auteur : Jean-François Bardeau)

Le projet de recherche : DIPP-Suf

Pour améliorer la sensibilité de la spectrométrie Raman, nous proposons d'élaborer des surfaces métalliques (ex. or, argent) nanostructurées afin de détecter et quantifier des espèces moléculaires en très faible concentration au sein de mélanges complexes. Ce projet vise donc à développer une méthode d'analyse innovante, basée sur

l'utilisation couplée de supports spécifiques « DRES » et d'une analyse chimiométrique¹⁶³ robuste permettant la détection et l'identification de multi-résidus dans des solutions extrêmement diluées.

Méthodologie

La première étape du projet consiste à développer et optimiser un support pour la détection des produits d'intérêt et nous mettrons ensuite au point une méthodologie d'analyse chimiométrique des données spectrales¹⁶⁴ permettant sans *a priori* :

- D'estimer le nombre d'espèces pures présentes dans le mélange complexe ;
- D'extraire l'ensemble des spectres d'espèces pures, nécessaires à l'identification moléculaire ;
- D'estimer la concentration relative de chacune d'entre elles.

Après validation de la méthode analytique, nos travaux porteront plus spécifiquement sur la détection simultanée de plusieurs polluants sur un même capteur ; deux pesticides habituellement retrouvés dans les eaux (parmi l'atrazine, l'acétochlore et l'isoproturon) et deux polluants émergents (parmi le dichlorofénac, le 17-bêta-estradiol, 17-alphaéthynylestradiol) seront testés.

À terme, ce projet devrait permettre de proposer des solutions (plus rapides et moins coûteuses) d'analyses sur le terrain à partir d'un équipement (spectromètre Raman) portable.

¹⁶¹ Ou SERS : de l'anglais « *Surface-Enhanced Raman Scattering* ».

¹⁶² Phénomène optique découvert en 1928 par Chandrashekhara Venkata Raman.

¹⁶³ Enveloppe Soleau déposée en décembre 2017.

¹⁶⁴ Méthode dite de « *soft modelling* » à partir des cartographies Raman obtenues sur plusieurs structures et plusieurs longueurs d'onde incidente.

Comment mesurer la toxicité des micropolluants ?

Système dual d'évaluation de la toxicité aigüe et chronique dans l'environnement

Axelle CADIÈRE et Kevin BERROU,
Université de Nîmes, EA 7352, CHROME

Étude de faisabilité (12 mois) – Financement : 50 K€ - Contact : axelle.cadiere@unimes.fr

Mots-clés : toxicité, micropolluants, pesticides, produits pharmaceutiques, microorganisme, *in vitro*, bio-capteur, luminescence, levure

Seuls ou en mélange, les micropolluants (ex. pesticides, produits pharmaceutiques) peuvent présenter un risque pour les écosystèmes et pour l'homme. Cette évaluation des risques est difficile car elle dépend de nombreux facteurs (propriétés physico-chimiques des molécules, effet cocktail, biodégradation etc.). Pour évaluer les risques de nombreux modèles ont été utilisés parmi lesquels les modèles animaux, les modélisations informatiques ou encore l'utilisation de micro-organismes ou d'organismes aquatiques.

Quelques exemples de dispositifs existants :

- Le Microtox®, ce test commercial permet d'évaluer une toxicité aigüe d'un échantillon en cinq à quinze minutes. Il est basé sur l'utilisation de bactéries bioluminescentes (*V. fischerii*) qui émettent de la luminescence. La mesure de la toxicité s'effectue par la mesure de l'extinction de la luminescence. Ce dispositif normalisé et très utilisé¹⁶⁵ présente l'intérêt d'être rapide à réaliser mais ne permet d'évaluer le risque d'une exposition à long terme. De plus, les bactéries possèdent des systèmes cellulaires qui ne répondent pas aux facteurs environnementaux comme les eucaryotes.

- La daphnie peut être utilisée pour déterminer la toxicité aigüe d'échantillons¹⁶⁶. La mesure est basée sur la mortalité des daphnies et plus précisément le paramètre mesuré est l'inhibition de la nage des Daphnies après une exposition de 24 à 48 heures. Ce test présente une sensibilité comparable au microtox cependant, l'utilisation des daphnies est plus contraignante, le test est plus long et plus coûteux.

Bien que ces dispositifs normalisés soient très utilisés, il est nécessaire de continuer à développer des outils qui permettraient d'une part de mieux évaluer le potentiel toxique de composés seuls ou en mélange et d'autre part qui permettrait d'évaluer le risque et la toxicité d'une exposition chronique.

Les levures modifiées

Une alternative consiste à utiliser des levures modifiées comme microorganismes. De nombreuses études ont déjà utilisé ce modèle pour permettre la surveillance spécifique des produits chimiques présentant un potentiel œstrogénique ou détecter l'effet génotoxique de certaines substances.

Récemment, une levure non conventionnelle *Arxulla adenivorans* a même été utilisée pour la détection de composés chimiques et pharmaceutiques tels que l'oméprazole, le lansoprazole¹⁶⁷, la naphthoflavone¹⁶⁸ et le méthylcholanthène¹⁶⁹.

Tous ces éléments nous ont conduits à tester la faisabilité d'utiliser une levure modifiée pour évaluer le potentiel toxique (aigüe ou chronique). La modification de la levure a consisté à placer le gène codant pour la luciférase (enzyme impliquée dans la réaction

¹⁶⁶ Norme internationale ISO 6341.

¹⁶⁷ Oméprazole et lansoprazole sont deux médicaments inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) indiqués contre le reflux gastrique.

¹⁶⁸ Agent de dosage analytique.

¹⁶⁹ Hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP).

¹⁶⁵ AFNOR T 90-320 et ISO 11348.

de bioluminescence) sous le contrôle d'un promoteur sensible à la présence de stress ou de certains médicaments.

L'idée était que l'augmentation du stress environnemental induirait une augmentation de la production de la luciférase. Pour révéler le niveau d'expression de la luciférase et donc la réponse aux différents contaminants, les substrats de cette enzyme doivent être ajoutés au milieu de culture avant de réaliser une mesure de la luminescence émise.

Le projet de recherche : DuoTOX

Ce projet présentait deux originalités :

La première originalité du projet résidait dans l'utilisation d'une réponse qui n'est pas spécifique d'un type de contaminants particuliers contrairement aux autres constructions réalisées chez la levure dans la littérature.

La deuxième originalité résidait dans l'utilisation d'un mode de culture en continu pour évaluer la toxicité chronique. Ce mode de culture permet de maintenir les levures en phase exponentielle de croissance sur de nombreuses générations (entre 100 et 200 générations) et donc de réaliser des expositions longues.

Résultats

Une quarantaine de micropolluants appartenant à différentes familles (antibiotiques, β -bloquants, antidouleur, perturbateurs endocriniens, pesticides...) ont été sélectionnés. Parmi ces composés, vingt-six ont présenté une réponse positive pour des gammes de concentration allant du picogramme au microgramme par litre. À ce stade, aucune spécificité quant à la nature chimique du micropolluant n'a pu être établie.

L'évaluation de la réponse chronique lors de l'exposition aux mélanges a été réalisée, en cultivant les cellules en fermenteurs continus.

Trois types de mélanges contenant vingt-deux des molécules ayant présenté une réponse individuellement ont été réalisées. La concentration d'utilisation de chacune des molécules constitutives du mélange a été définie à partir des valeurs environnementales décrites dans la littérature et représentative de différents types d'environnement (eau de sortie de station d'épuration, eau de surface etc.). Quelques soient les conditions, une augmentation de luminescence a été observée après exposition. De plus, après cinq jours d'exposition continue à l'un des mélanges, la luminescence émise par les levures a diminué, ce qui pourrait témoigner d'une adaptation à la présence de ces composés.

En conclusion, Ces premiers résultats issus de cette étude de faisabilité (un an) ont permis de mettre en évidence que le système répondait à un certain nombre de micropolluants. A ce jour, il est impossible d'évaluer quels sont les mécanismes mis en jeu dans les réponses et des études de transcriptomique sur les composés induisant une réponse ou pas devraient permettre d'amener des éléments de réponse.

Il y a un réel intérêt à poursuivre les études initiées, pour améliorer la sensibilité du dispositif et pour comprendre ces mécanismes de réponse.

Les interactions toxicologiques entre les poumons et le foie

Développement d'un dispositif innovant *in vitro* pour l'évaluation toxicologique de xénobiotiques inhalés : poumon/foie

Muriel VAYSSADE, Université de Technologie de Compiègne, UMR CNRS 7338

Les partenaires : **Rachid Jellali** et **Sabrina Madiedo-Podvrsan**, UMR CNRS 7338 – **Ghislaine Lacroix**, Unité de toxicologie expérimentale (TOXI), Ineris - **Céline Brochot**, Unité de modélisation, Ineris

Étude de faisabilité en cours (depuis fin 2019) –
Financement : 50 K€ - Contact : muriel.vayssade@utc.fr

Mots-clés : *in vitro*, toxicologie, poumon, foie, inhalation, toxicité, appareil respiratoire, aérosol, cellule, xénobiotique, méthode alternative, biopuce, modèle, modélisation toxicocinétique, mécanisme action, pollution air, micropolluant, agent chimique, pesticide, mélange, agriculture, exposition professionnelle

Les poumons et le foie interagissent fortement dans l'organisme, comme en témoignent les anomalies pulmonaires décrites au cours des maladies hépatiques et inversement. En effet, des études réalisées sur des modèles animaux ont mis en évidence le rôle des polluants inhalés dans le développement de certaines maladies hépatiques (ex. fibrose, cirrhose, cancer). Après le passage de la barrière pulmonaire, les substances inhalées (ex. particules fines, pesticides, HAP) peuvent interagir avec les cellules immunitaires et induire un environnement inflammatoire dans le foie ou agir directement sur les cellules hépatiques (ex. stress oxydatif, lésions de l'ADN, peroxydation lipidique).

Si ces interactions toxicologiques sont admises, les modèles d'étude reposent toujours des modèles animaux (*in vivo*). Il n'existe pas encore, à ce jour, de dispositif *in vitro* permettant d'évaluer des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de

l'air, notamment les potentiels « effets cocktail » des mélanges de polluants (à la fois sur les tissus pulmonaires et hépatiques). Dans un contexte de réduction de l'expérimentation animale (règle des 3R¹⁷⁰), le développement de méthodes alternatives fiables est devenu une nécessité.

L'appareil pulmonaire

L'appareil respiratoire est une voie d'absorption de nombreuses substances « xénobiotiques »¹⁷¹, sous forme d'aérosols, de gaz ou de nanoparticules. Une fois dans les poumons, les substances inhalées peuvent interagir avec les cellules pulmonaires, qui sont d'une très grande diversité. Ainsi, les mécanismes par lesquels ces substances inhalées induisent des dommages pulmonaires sont complexes (ex. échange gazeux au niveau des cellules alvéolaires, cellules sécrétrices ciliées, cellules endothéliales, phagocytes). Les poumons ont aussi la capacité de métaboliser (transformer) des xénobiotiques – les cytochromes de la famille P450¹⁷² étant exprimés dans les cellules alvéolaires, les cellules ciliées et les macrophages.

Le foie

Le foie assure de nombreuses fonctions essentielles comme le stockage et la répartition des nutriments issus de la digestion, le métabolisme des substances « xénobiotiques » (ex. médicaments, produits chimiques), la production et la sécrétion de composants du plasma et la bile. C'est un organe exposé en permanence à une large gamme de substances chimiques et il joue un rôle capital dans leur dégradation.

¹⁷⁰ De l'anglais, « *Reduce, Refine, Replace* » (réduire, raffiner, remplacer).

¹⁷¹ Étrangères à l'organisme vivant, ni produite par l'organisme lui-même ni par son alimentation naturelle.

¹⁷² Les CYP450 sont des protéines dotées de propriétés catalytiques. Il existe plus de 18.000 protéines dans la famille des P450.

Pour étudier les voies métaboliques impliquées dans la transformation biologique (biotransformation) des substances chimiques, de nombreux modèles expérimentaux sont utilisés :

- Les modèles d'expérimentation animale (*in vivo*) présentent certains inconvénients (ex. variabilité inter-espèces, problèmes éthiques) ;
- Les modèles cellulaires *in vitro* ne reproduisent pas les conditions physiologiques (ex. absence d'organisation tridimensionnelle, monoculture statique). Avec la mise en place de la réglementation REACH¹⁷³, de nouvelles méthodes de culture *in vitro* ont émergé, dont une semble prometteuse pour surmonter les limites des anciens modèles *in vitro* : l'utilisation de biopuces microfluidiques.

Les biopuces microfluidiques

Petits bioréacteurs réalisés avec des polymères, les biopuces (ou « biochips ») sont des objets microstructurés dans lesquels les cellules peuvent être cultivées. Couplées à la microfluidique¹⁷⁴, les biopuces PDMS¹⁷⁵ contiennent des micro-canaux connectés entre eux de manière dynamique.

Utilisées pour les « laboratoires sur puces » (« *lab-on-a-chip* »), les biopuces hépatiques reproduisent les conditions physiologiques des tissus (ex. architecture 3D, conditions dynamiques) ; elles permettent aussi aux lignées cellulaires et aux cellules primaires de maintenir leur prolifération, leur survie et leur fonctionnalité. Elles sont ainsi capables de métaboliser les molécules chimiques et se révèlent comme des outils performants pour identifier des biomarqueurs de toxicité :

¹⁷³ Règlement REACH No 1907/2006 entré en vigueur en 2007.

¹⁷⁴ Science et technologie qui manipule des fluides dans des canaux ou des systèmes de taille micrométrique.

¹⁷⁵ En polydiméthylsiloxane.

améliorer la sensibilité, le coût et la vitesse d'analyse.

De plus, ces microtechnologies permettent de réaliser plusieurs couplages de micro-organes : co-cultures de cellules pulmonaires et de cellules hépatiques par exemple.

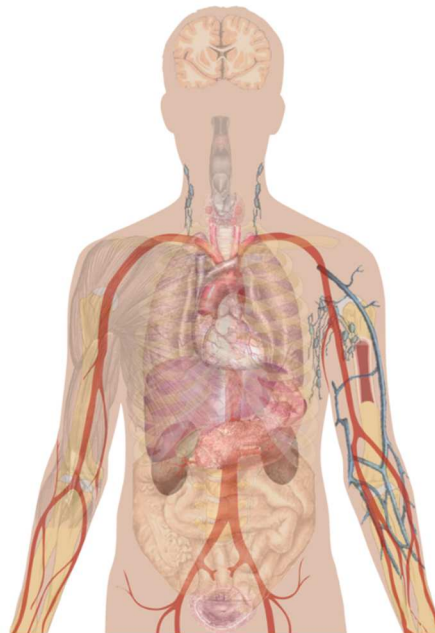


Illustration 24 : Les organes humains (Auteur : Mikkael Haggstrom)

Le projet de recherche : LuLi

Le projet de recherche LuLi s'inscrit dans le cadre de la réglementation REACH pour évaluer les effets des produits chimiques sous la forme d'aérosols, tels que les pesticides utilisés par les travailleurs agricoles. Développer un système *in vitro* permettant un couplage entre les appareils pulmonaire et hépatique serait un outil pertinent pour identifier des indicateurs pour l'évaluation des expositions chroniques et/ou cumulées à la pollution de l'air, de la toxicité des mélanges de micropolluants ou « effets cocktail ».

L'hypothèse scientifique sous-jacente au projet proposé est que les substances inhalées agissent non seulement sur les poumons (organe cible) mais aussi sur le foie et que ce dernier pourrait moduler la toxicité observée sur les poumons. À l'inverse, les polluants inhalés passant obligatoirement par l'appareil

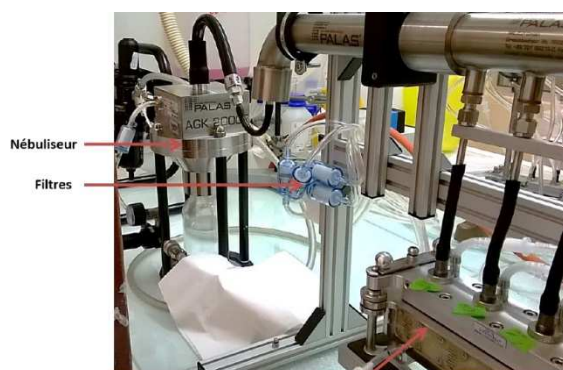
pulmonaire, ce dernier pourrait influencer la toxicité au niveau hépatique.

Méthodologie

Différentes pistes sont combinées pour établir un dispositif pertinent :

- Exposer des barrières pulmonaires cultivées à l'interface air-liquide (ALI) à des aérosols générés par un équipement assurant un flux continu en phase gazeuse ;
- Mimer l'environnement alvéolaire (où ont lieu les échanges gazeux dans l'appareil respiratoire) composé de plusieurs populations cellulaires ;
- Utiliser des cellules primaires humaines pour établir la biopuce hépatique.

Les données recueillies pourront être utilisées en toxicologie prédictive.



Module d'exposition VitroCell® :
permet l'exposition des cellules cultivées en
insert à l'interface air-liquide

Illustration 25 : Modèle d'exposition à l'interface air-liquide (Source : BMBI/Ineris)

Résultats préliminaires

Les micro-organes ont été établis, caractérisés puis traités séparément avec des molécules toxiques. Le couplage des deux compartiments a déjà été réalisé avec succès et nous allons soumettre le dispositif « poumon-foie » à différents traitements.

Abréviations utilisées

ADBAC, Alkyle diméthyl benzyle ammonium

ADEME, Agence de la transition écologique

ADN, acide désoxyribonucléique

AgRP, Protéine apparentée à Agouti (ou peptide apparenté à Agouti)

ALI, De l'anglais "Air-Liquid Interface" (interface air-liquide)

Anses, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

APR, Appel à projets de recherche

AQ, Ammonium quaternaire

ARG, Gènes résistants aux antibiotiques

ARN, Acide ribonucléique

ARNm, ARN messenger

ATMAC, Triméthyle alkyle ammonium

ATP, Adénosine triphosphate

B(a)P, Benzo[a]pyrène

BPA, Bisphénol A

CART, Transcription régulée par la cocaïne et l'amphétamine (neuropeptide)

CBZ, Carbamazépine

CFA, Centre de formation en apprentissage

CGO, Canceropôle Grand Ouest

CIRC, Centre International de Recherche sur le Cancer

CLD, Chlordécone

CMR, Substance cancérigène, mutagène et reprotoxique (toxique pour la reproduction)

CYP, Cytochrome P450

DAAF, Direction de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt

DADMAC, Diméthyle dialkyle ammonium

DAOA, Denrées animales ou d'origine animale

DCE, Directive Cadre sur l'Eau (Directive 2013/39/EU)

DFA, Départements français d'Amérique

DGAL, Direction générale de l'alimentation

DJA, Dose journalière admissible

DJT, Dose journalière tolérable

DMLA, Dégénérescence maculaire liée à l'âge

DRES, Diffusion Raman exaltée de surface

EAA/EEAA, Acides éthoxy-/éthoxyéthoxy-acétiques

EDCH, Eau de consommation humaine

EGBE, 2-Butoxyéthanol

EGEA, Étude épidémiologique des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme

EGEE, 2-éthoxyéthanol

EGM, Eléments génétiques mobiles

EGME, 2-méthoxyéthanol

EMAA, Plan Énergie Méthanisation Autonomie Azote

ERS, Evaluation des risques sanitaires

EST, Environnement Santé Travail

GDS, Groupement de défense sanitaire

GFAP, De l'anglais "Glial fibrillary acidic protein" (protéine acide fibrillaire)

HAP, Hydrocarbure aromatique polycyclique

HepaRG, De l'anglais "hepatic cell line" (cellules de la lignée d'hépatome)

IgE, Immunoglobuline E (anticorps)

Inra, Institut national de la recherche agronomique (jusqu'en 2019)

INWORKS, Étude épidémiologique internationale sur les travailleurs du secteur nucléaire (depuis 2011)

ISCO, De l'anglais "In Situ Chemical Oxidation" (Oxydation chimique in situ)

LED, De l'anglais "Light-emitting diode" (diode électroluminescente)

LMR, Limite maximale de résidus (seuil réglementaire)

MiARN, MicroARN

MSH, Mélatropine (hormone)

NAFL, De l'anglais "Non Alcoholic Fatty Liver" (stéatose bénigne)

NAFLD, De l'anglais "Non Alcoholic Fatty Liver Disease" (stéatose)

NASH, De l'anglais "Non Alcoholic SteatoHepatitis" (stéatohépatite non alcoolique)

NOEL, De l'anglais "No observed effect level" (dose sans effet observable)

NPY, Neurone à neuropeptide Y

OFB, Office français de la biodiversité

PBMC, De l'anglais "Peripheral Blood Mononuclear Cells" (cellules mononuclées du sang périphérique)

PBT, Substance persistante dans l'environnement, bioaccumulable et toxique

PCR, De l'anglais "Polymerase Chain Reaction" (amplification en chaîne par polymérase)

PE, Perturbateur endocrinien

PhAA, Acide phénoxyacétique

PNR EST, Programme national de recherche en Environnement-Santé-Travail

POMC, Neurones à pro-opiomélanocortine

POP, Polluant organique persistant

PTG, Produits terminaux de glycation

REACH, De l'anglais "Registration, Evaluation and Autorisation of CHemicals" (règlement européen)

RT-PCR, De l'anglais "Reverse Transcriptase-PCR" (transcription inverse suivie d'une PCR)

SA, Substance active

STEP, Station d'épuration (traitement) des eaux usées

TEF, Facteur d'équivalence toxique

US EPA, De l'anglais "United States Environmental Protection Agency" (agence américaine de protection de l'environnement)

vBvP, De l'anglais "(very) Persistent (very) Bioaccumulative" (très persistantes et très bioaccumulable)

VE, Vésicule extracellulaire

ZIKA-DFA-BB, Étude observationnelle des conséquences néonatales et pédiatriques de l'infection à virus Zika au cours de la grossesse pendant l'épidémie des départements français d'Amérique de l'année 2016

ZIKA-DFA-FE, Étude observationnelle des conséquences de l'infection à virus Zika au cours de la grossesse pendant l'épidémie des départements français d'Amérique de l'année 2016

ZIKV, Virus Zika

Table des illustrations

Illustration 1 : L'impact des contaminants chimiques sur le milieu aquatique (Source : iStockphoto) ..	5
Illustration 2 : L'exposome (Source : Martine Vrijheid, ISGlobal)	7
Illustration 3 : Les résidus de pesticides dans l'alimentation (Source : iStockphoto)	9
Illustration 4 : Vers une traçabilité de toutes les expositions (Source : iStockphoto).....	10
Illustration 5 : Prélèvement d'échantillons d'eau dans la rivière L'isle (Auteur : Alice Saunier)	18
Illustration 6 : Évaluation des risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine (Anses Éditions, Fév. 2013).....	20
Illustration 7 : Structure piscicole expérimentale (Auteur : Thierry Morin).....	22
Illustration 8 : Sites et sols pollués (Source : Fotolia).....	24
Illustration 9 : Origines et risques sanitaires liés à la présence d'anthraquinone dans les eaux destinées à la consommation humaine (Anses, Édition scientifique, juil. 2011)	25
Illustration 10 : Les animaux d'élevage aux Antilles (Source : iStockphoto).....	26
Illustration 11 : Chaire Agrométhéa, filière industrielle – ENSAIA, École de l'Innovation et de la Transition, Nancy.....	28
Illustration 12 : Co-exposition aux insecticides et au virus Zika au cours de la grossesse (Source : iStockphoto)	29
Illustration 13 : Effets sanitaires des systèmes d'éclairage utilisant des diodes électroluminescentes (Anses, Édition scientifique, oct. 2010)	31
Illustration 14 : Effets sur la santé humaine et sur l'environnement des diodes électroluminescentes (Anses Éditions, avril 2019)	32
Illustration 15 : Exposition des femmes enceintes aux éthers de glycol (Source : iStockphoto).....	34
Illustration 16 : Exposition professionnelle aux ammoniums quaternaires (Source : iStockphoto)	35
Illustration 17 : <i>Drosophila melanogaster</i> ou mouche du vinaigre (Auteur : André Karwath)	38
Illustration 18 : Plan Écophyto II+.....	39
Illustration 19 : Rôles du microbiote intestinal (Source : Protima Amon & Ian Sanderson).....	40
Illustration 20 : Effets hépatiques des pesticides les plus rencontrés dans l'alimentation (Source : iStockphoto)	43
Illustration 21 : L'exposition aux pesticides (Source : iStockphoto).....	47
Illustration 22 : La surveillance de l'eau (Source : iStockphoto)	49
Illustration 23 : Principe de l'analyse de l'eau (Auteur : Jean-François Bardeau).....	50
Illustration 24 : Les organes humains (Auteur : Mikkael Haggstrom).....	54
Illustration 25 : Modèle d'exposition à l'interface air-liquide (Source : BMBI/Ineris)	55

Mentions légales

Ce numéro des *Cahiers de la Recherche* a été réalisé par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) dans le cadre de l'animation et de la valorisation du Programme National de Recherche en Environnement-Santé-Travail (PNR EST).

Ont contribué à ce numéro

Jean-François Bardeau, UMR 6283, Le Mans Université - **Xavier Bellanger**, UMR 7564, Univ. de Lorraine - **Kevin Berrou**, EA 7352, Univ. de Nîmes - **Coralie Biache**, LIEC, UMR 7359 - **Axelle Cadière**, EA 7352, Univ. de Nîmes - **Cécile Chevrier**, Inserm, Rennes - **Amélie Crépet**, Anses, Maisons-Alfort - **Julien Dairou**, UMR 8601, Univ. de Paris - **Cyril Feidt**, Univ. de Lorraine - **Bernard Fromenty**, Inserm U1241, Univ. de Rennes 1 - **Armel Gallet**, Institut Sophia Agrobiotech, Sophia Antinopolis - **Laurence Gamet-Payrastre**, Toxalim, Toulouse - **Saadia Kerdine-Römer**, UMR 996, Univ. Paris Saclay - **Christophe Merlin**, UMR 7564, Univ. de Lorraine - **Philippe Quénel**, EHESP, Rennes - **Laurence Salomé**, CNRS, UMR 5089, Toulouse - **Lydie Sparfel**, UMR S1085, Univ. de Rennes 1 - **Alicia Torriglia**, Inserm U1138, Paris - **Muriel Vayssade**, UMR 7338, Univ. de Technologie, Compiègne

Remerciements

Nous remercions l'ensemble des contributeurs, et plus particulièrement Protima Amon, Fabrice Coutureau-Vicaire, Aurélie Desbrée, Hélène Desqueyroux, Isabelle Domain, Christine Druesne, Laëtitia Dubois, Guillaume Gay, Aude Guérin, Sophie Guitton, Mikkael Haggstrom, Fanny Kouguere, Delphine Lascar, Gérard Lasfargues, Ivan Le Gallo, Sophie Le Quellec, Lucie Moreels, Thierry Morin, Aurélie Pajon, Chris Roth, Christophe Rousselle, Ian Sanderson, Alice Saunier, Matthieu Schuler, Caroline Semaille, Anne Tilloy, Elsa Vidal, Martine Vrijheid.

Directeur de la publication :

Roger GENET (Directeur général, Anses)

Conception et réalisation :

Nathalie RUAUX (Direction financement Recherche et Veille, Anses)

Suivez l'actualité de l'Agence sur les réseaux sociaux



@Anses_fr



<https://www.linkedin.com/company/french-agency-for-food-environmental-and-occupational-health-&-safety-anses->

Archives ouvertes

HAL-Anses est la plateforme d'auto-archivage permettant le dépôt et la consultation de l'ensemble de la production scientifique des chercheurs et des évaluateurs scientifiques de l'Anses (hors avis).

Découvrez la collection des *Cahiers de la Recherche* sur la plateforme d'archive ouverte HAL-Anses !

The screenshot displays the HAL-Anses website interface. At the top, there is a navigation bar with 'CCSD', 'HAL', 'Epublis.com', 'Sciencesconf.org', and 'Support'. Below this is the main header for 'LES CAHIERS DE LA RECHERCHE' with the subtitle 'Santé, Environnement, Travail'. A search bar is visible with the text 'Termes de recherche'. The main content area features an 'ACTUALITÉS' section with the title 'RÉSISTANCES ET MÉTHODES ALTERNATIVES (28/12/17)' and a 'RECHERCHE' section with a search bar and a list of 'MOTS CLÉS' including terms like 'Ultraviolet', 'Particule atmosphérique', 'Biocide', 'Cohorte', 'Phalate', 'Cervicau', 'Gène', 'Pesticide', 'Exposition', 'Radon', 'Cancer', 'Pollution', 'atmosphérique', 'Persistence', 'Moustique', 'Cellule', 'Agriculture', 'Deltaméthrine', 'Femelle', 'Céréale', 'Obésité', 'Caryoplast', 'Produit chimique', 'Contamination', 'Automobile', 'Chikungunya', 'Environnement', 'Allergie', 'Alimentation', 'Médicament', 'antibiotique', 'Combustion', 'Microorganisme', 'Résistance', 'Évaporation', 'Champ électromagnétique', 'Toxicologie', 'Toxicité', 'Facteur risque', 'Plastique', 'Modélisation', 'Immunité', 'Modélisation', 'Insecticide', 'Dioxide de stane', 'Côte d'Ivoire', 'Exposition multiple', 'Antibiorésistance', 'Barrière', 'Alvéolaire', 'Absorption', 'Sol', 'Translocation', 'Leucémie', 'Sulfite', 'Asthme', 'Station épuration', 'Silice', 'Nanotechnologies', 'Poumon', 'Dioxine', 'Tumeur', 'Polluant', 'Stress', 'Bronchite', 'Mycotoxine', 'Lymphome', 'Eau usée', 'Ammoniac', 'Lombalgie', 'Inhalation', 'Bruit', 'Benzobiphenanthène', 'obésité', 'Exposition professionnelle', 'Rhinite', 'ASMR', 'Alimentaire', 'Stress oxydant', 'Dose faible', 'Polychlorobiphényles', 'Trafic', 'Formaldéhyde', 'Adénocarcinome', 'Nanoparticule', 'Escherichia coli', 'Enquête cas témoin', 'Trouble musculo-squelettique', 'Agrégation', 'Bactérie', 'Carcinome', 'PCB', 'Radiofréquence', 'Perturbateur endocrinien', 'Disémination', 'Prévention', 'Biomarqueur', 'Génotoxicité', 'Enfant', 'Appareil respiratoire'.

https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/CAHIERS_DE_LA_RECHERCHE

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL est destinée au dépôt et à la diffusion d'articles scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.





anses

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14, rue Pierre et Marie Curie - 94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr @Anses_fr